Aus der medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.A. Kühn

VERHALTEN VON PLASMA-RENIN-AKTIVITÄT, RENIN-KONZENTRATION, RENIN-SUBSTRAT UND ARTERIELLEM BLUTDRUCK NACH EINMALIGER ENDOTOXINGABE BEIM KANINCHEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Michael Trapp

aus Altenhundem/Sauerland

1981

Würzburg, den 9. Juli 1980

Aus der medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.A. Kühn

VERHALTEN VON PLASMA-RENIN-AKTIVITÄT, RENIN-KONZENTRATION, RENIN-SUBSTRAT UND ARTERIELLEM BLUTDRUCK NACH EINMALIGER ENDOTOXINGABE BEIM KANINCHEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Michael Trapp

aus Altenhundem/Sauerland

Würzburg, den 9. Juli 1980

Referent: Prof. Dr. med. H. Wernze
Korreferent: Prof. Dr. med. H.A. Kühn
Dekan: Prof. Dr. med. K.H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 7.5.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	METHODIK	2
	1. Tiermaterial und Tierhaltung	2
	2. Endotoxininjektion	2
	3. Blutentnahmetechnik	2
	4. Bestimmung des Hämatokrit	4
	5. Bestimmung des Gesamteiweiß	4
	6. Bestimmung des Blutdrucks	6
	7. Prinzip der radioimmunologischen Bestimmung der Kenngrößen des Renin-Angiotensin Systems: Renin-Aktivität, Renin-Konzentration und Renin-Substrat Konzentration	9
	A. Aufarbeitung der Plasmen	9
	B. Durchführung des Radioimmunassays	12
	C. Berechnung der Ergebnisse	15
	8. Statistische Berechnungen	18
III.	ERGEBNISSE	19
	1. Veränderungen des Blutdrucks	19
	2. Veränderungen der PRC nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und 3 µg/kg	22
	3. Veränderungen der PRA nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und 3 µg/kg	26
	4. Veränderungen der PRSC nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und 3 µg/kg	28
	5. Veränderungen von Hämatokrit und Gesamteiweiß	32
IV.	DISKUSSION	37
V.	ZUSAMMENFASSUNG	46
VI.	LITERATURNACHWEIS	47

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0008

I. EINLEITUNG

Veränderungen der Aktivität des Renin-Angiotensin Systems (RAS) wurden unter einer Vielzahl verschiedener Einflüsse untersucht. So wurden hämodynamische Parameter, wie Hämorrhagie (21), arterielle Hypotension (1,16) und Hypertension (8), wie Störungen des Elektrolythaushaltes durch Wassermangel (7) und Salzentzug (10,56) als relevant für die Reninfreisetzung beschrieben. Die Einflußnahme hormoneller Faktoren (24,27,50) ist analysiert worden, ebenso die Reizung (12,50) und Durchtrennung (5,46) renaler Nerven. Die Frage der Reaktion des Renin-Angiotensin Systems bei Endotoxinämie wurde bislang selten bearbeitet. Angiotensin II-Bestimmungen erfolgten lediglich über 90 Minuten (25) und 120 Minuten (54) nach i.v. Gabe von Endotoxin und wurden mit der biologischen Nachweismethodik durchgeführt (25,54). An den Versuchstieren wurden chirurgische Eingriffe vorgenommen und den Experimenten ging eine Narkose voraus (54), oder wurde über die gesamte Dauer der Versuche aufrechterhalten (25), was aber bereits per se zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin Systems führt (11,19,58).

Aufgabe der folgenden Untersuchungen sollte sein, die Veränderungen von Renin und Angiotensinogen unter dem Einfluß einer Endotoxinämie durch radioimmunologische Bestimmung verschiedener Kenngrößen des RAS zu erfassen, da Renin und sein Substrat unterschiedlichen Regulationsfaktoren unterliegen. Dabei war auch die Frage der Veränderungen in Abhängigkeit von der Endotoxindosis von Interesse.

II. METHODIK

1. Tiermaterial und Tierhaltung

Als Versuchstiere dienten Kaninchen eines Wildstammes mit einem Gewicht zwischen 1900 g und 4200 g. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere lag bei 3090 g. Es fanden männliche und weibliche Tiere in zahlenmäßig etwa gleichem Verhältnis Verwendung. Die Tiere wurden einzeln in Metallkäfigen (RUCO-Waalke / Holland) gehalten, in denen sie sich vor Versuchsbeginn einige Tage an die veränderten Umweltbedingungen gewöhnen konnten. Als Trinkwasser wurde Leitungswasser aus 0,7 l Altromin Plastikflaschen verwendet. Als Nahrung bezogen die Tiere Trockenfutter der Marke Altromin^{R} KN-023. Beides stand ad libitum zur Verfügung. Der natürliche Tag-Nacht Rhythmus wurde beibehalten und die Temperaturen im Tierstall korrelierten in etwa mit der Außentemperatur.

2. Endotoxininjektion

In den Versuchen wurde Endotoxin des Escherichia Coli Stammes B_4 verwendet (Difco-Lab. / Michigan-USA). Die Trockensubstanz des Fläschchens, mit einer Gesamtmenge von 100 mg, wurde gelöst in 0,9% NaCl und so weiterverdünnt, daß das Injektionsvolumen zwischen 1 ml und 2 ml lag. In diesem Bereich ist eine genaue Dosierung bei gleichzeitig geringer Volumenbelastung gegeben. Die Injektion erfolgte langsam in eine laterale Ohrvene des Tieres. Die injizierte Endotoxindosis betrug 6µg/Kg Körpergewicht für eine Tiergruppe, 3µg/Kg Körpergewicht für eine Andere. Bei der Endotoxindosis von 6µg/Kg handelt es sich nach Untersuchungen von GILBERT und BRAUDE (20) um eine LD 10.

3. Blutentnahmetechnik

Unmittelbar vor der Endotoxininjektion wurden jedem Tier 5 ml Blut entnommen (Null-Stunden Wert). Weitere Blutentnahmen folgten 3h, 6h, 9h, 12h, 24h, 48h, und 72h nach Endotoxingabe. Zur Blutentnahme wurden die Tiere in eine Pyrogentestbox für Kaninchen (Süsse & Schmidt KG) gesetzt.

Hierdurch wurde bei Vermeidung größerer Gewalteinwirkung die Bewegungslosigkeit bei der Blutentnahme sichergestellt. Das Blut wurde aus einer lateralen oder medialen Ohrvene entnommen. Verwendung fanden Einmalspritzen und Einmalkanülen, welche mit Heparin (Na-Heparin 5000 IE/ml oder Liquemin^{R} 5000 IE/ml) benetzt waren. Die Desinfektion des Ohres erfolgte mit Kodan^{R} oder mit 70% Äthylalkohol. Durch das Desinfektionsmittel und Beklopfen des Ohres wurde eine leichte Vasodilatation erreicht, die die Blutentnahme erleichterte.
Bei den letzten Blutentnahmen kann durch Hämatome oder intravasale Gerinnung die Gewinnung von Blut außerordentlich schwierig werden. Hier kann das Bestreichen des Ohres mit Xylol empfohlen werden. Hierdurch wird eine massive Vasodilatation ausgelöst. Dies sollte aber, im Interesse des Tieres, auf ein- bis zweimalige Anwendung beschränkt bleiben, da sonst schwere Epithelnekrosen die Folge sind. Das Entnahmevolumen betrug 5 ml und wurde durch die gleiche Menge Haemaccel^{R} substituiert, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch das immerhin nicht unbeträchtliche Volumen zu vermeiden. Unmittelbar nach der Entnahme wurde das Blut in Kunststoffröhrchen (Saarstedt Versandröhrchen 101/16G 195G) verbracht, welche sich in einem Eisbad befanden.
Die Röhrchen enthielten einen Angiotensinaseninhibitor, bestehend aus einer "Lösung A" und einer "Lösung B" mit folgender Zusammensetzung:

Lösung A:

1.	23,4511 g	Na_2EDTA	(0,25M)
+ 2.	2,4977 g	1-10-O-Phenantrolin	(0,05M)
+ 3.	0,5 g	Neomycinsulfat	(0,2 %)

Lösung B:

1.	3,2924 g	PMSF	(0,378M)
+ 2.	50,0 ml	Äthanol abs.	

Für 5 ml Vollblut sind die Röhrchen beschickt mit 0,04 ml der Lösung B und 0,208 ml der Lösung A. Der prozentuale Verdünnungsfehler durch Zugabe dieses Inhibitors beträgt 4,76%. Zusätzlich enthielt jedes Versandtgefäß einen Tropfen Heparin. Nach Zugabe des Blutes wurden die Volumina durch vorsichtiges

Schwenken des verschlossenen Röhrchens gemischt. Nach Bestimmung des Hämatokrit wurde das Blut 15' bei +4°C und 4000 U/min zentrifugiert (Zentrifuge: Heraeus-Christ GmbH; Typ 5914) und anschließend in Polystyrolröhrchen (Saarstedt Nr. 55/12) wie folgt aufgeteilt:

Plasma-Renin Aktivität	(PRA)	0,6 ml
Plasma-Renin Konzentration	(PRC)	0,2 ml
Renin-Substrat Konzentration	(PRSC)	0,1 ml

Der Rest wurde in ein weiteres Röhrchen verbracht. Die Proben wurden bis zur weiteren Verwendung bei -25°C eingefrohren.

4. Bestimmung des Hämatokrit

H eparinisierte Kapillarröhrchen mit einer Länge von 75 mm und einem Durchmesser von 1,3 mm bis 1,4 mm für Micro-Hämatokritbestimmung (WN / Mainz) werden zu etwa 3/4 mit Blut gefüllt. Die Röhrchen werden am freien Ende über der kleinen Flamme eines Bunsenbrenners zugeschmolzen. Es ist darauf zu achten, daß sich beim Zuschmelzen kein Hohlraum am Ende des Röhrchens ergibt, was die Ergebnisse verfälschen würde. Bei jeder Blutprobe wird eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die Kapillarröhrchen werden 5' zentrifugiert (International Micro-Capillary Centrifuge; Marke MB- International Equipment Company, Boston Mass.). Im Folgenden wird der Hämatokrit auf einem speziellen Gerät (International Micro-Capillary Reader; Fa. s.o.) abgelesen und aus jeder Doppelbestimmung der Mittelwert gebildet.

5. Bestimmung des Gesamteiweiß

Das Gesamteiweiß wurde mit der Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (53) bestimmt. Das Biuret-Reagens wird wie folgt angesetzt:

1. 45 g	K^+-Na^+ Tartrat	
+ 2. 15 g	$CuSO_4 x\ 5H_2O$	werden gelöst in etwa 400 ml 0,2n NaOH
+ 3. 5 g	K J	werden nach vollständiger Lösung zugegeben.

Der gesamte Ansatz wird mit 0,2n NaOH auf 1l Gesamtvolumen aufgefüllt. Zur Bestimmung werden eine Blindprobe, ein Eiweißstandard und die eigentlichen Testplasmen wie folgt angesetzt:

Blindprobe	:	1.	2,5 ml	Physiol. NaCL
		+ 2.	2,5 ml	Biuret-Reagens
Eiweißstandard	:	1.	2,5 ml	Physiol. NaCL
		+ 2.	50,0 ul	Moni-trol-I-Dade^{R} (B 5103 Lot No. LTD 137 mit einer Eiweißkonz. von 7,2 g/100 ml)
		+ 3.	2,5 ml	Biuret-Reagens
Testplasmen	:	1.	2,5 ml	Physiol. NaCL
		+ 2.	50,0 ul	Plasmaprobe
		+ 3.	2,5 ml	Biuret-Reagens

Die Reagenzien müssen in der aufgezeigten Reihenfolge pipettiert werden. Jedes Röhrchen wird gevortext und der Ansatz bleibt 30' bei Raumtemperatur stehen. Die photometrische Bestimmung wurde mit einem Eppendorf Photometer (Netheler & Hinz GmbH, Hamburg) durchgeführt. Die Extinktionen wurden gemessen bei einer Wellenlänge von 546 nm (Filter Hg 546 nm). Es fanden Quarzküvetten mit einer Schichtdicke von 10 mm Verwendung. Die erste Küvette wurde mit der Blindprobe gefüllt, die während der gesamten Messung im Gerät verblieb und auf eine Extinktion von 0,000 abgeglichen. In den restlichen Küvetten werden Kontrollserum bzw. Plasmaproben in Form einer Doppelbestimmung gemessen. Die Küvetten werden bei einer neuen Bestimmung mit dem zu messenden Biuret-Ansatz ausgespült und mit der Hand ausgeschleudert. Bei jeder Messung wird das Photometer mit dem Leerwert auf Null abgeglichen.

Berechnung der Ergebnisse:

Das Kontrollserum Moni-trol I^{R} ist angegeben mit einer Gesamteiweißkonzentration von 7,2 g/100 ml. Gegen den Leerwert wird z.B. eine Extinktion von 0,26 und 0,22, gemittelt 0,24, gemessen. Als Umrechnungsfaktor ergibt sich demnach:

$$F = \frac{7,2}{0,24} \quad (g/100\ ml) = \underline{30\ (G/100\ ml)}$$

Mit diesem Faktor müssen die Extinktionen der unbekannten Plasmaproben multipliziert werden.

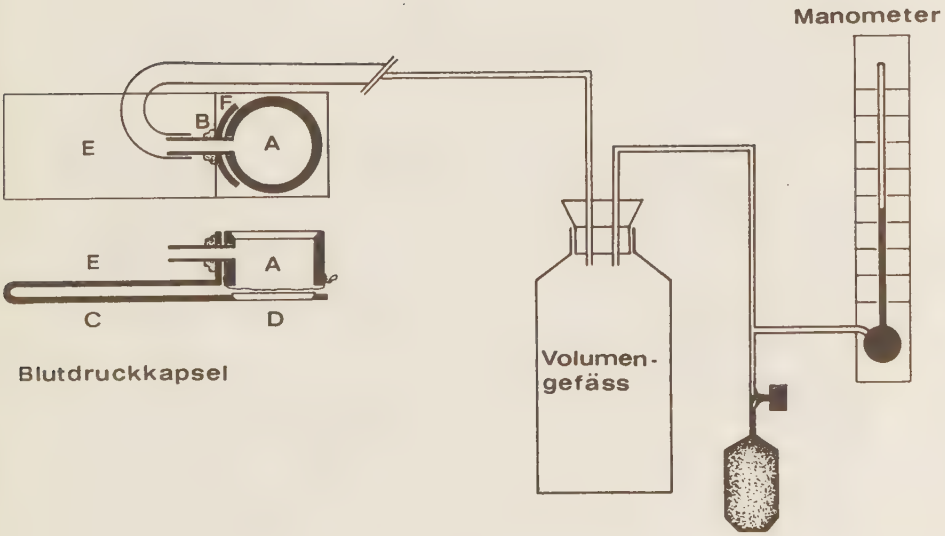
6. Bestimmung des Blutdrucks

Der Blutdruck wurde mit Hilfe einer Kapsel nach der von GRANT und ROTHSCHILD (22) beschriebenen Methode indirekt an einer Ohrarterie bestimmt. Die Blutdruckkapsel wurde nach den dort angegebenen Materialien und Maßen selbst hergestellt. Eine Zeichnung der Kapsel und des Aluminiumträgers, sowie der Versuchsanordnung ist in Abb. 1 dargestellt.

Die eigentliche Kapsel ist ein Aluminiumzylinder mit einer Länge von 10 mm und einem Außendurchmesser von 19 mm. Die Wanddicke beträgt 1,5 mm. Am oberen Ende der Kapsel ist ein rundes Glasscheibchen, oder aus Gründen der einfacheren Bearbeitung, ein Plexiglasscheibchen luftdicht eingeleimt. Das untere Ende der Kapsel schließt eine lose gespannte Gummimembran luftdicht ab. Eine Anschlußröhre B, mit einem Außendurchmesser von 3 mm und einer Länge von 20 mm ist in die Mitte der Kapselwand luftdicht eingeschraubt. Als Träger dient ein U-förmig gebogener Aluminiumstreifen E, mit einer Dicke von 1,5 mm und einer Breite von 20 mm. Der Zwischenraum zwischen den beiden freien Enden des U beträgt 2 mm. Die untere Klammer C ist 55 mm lang und in ihr freies Ende ist ein Plexiglasscheibchen D eingelassen, so daß dieses genau unter der Kapsel zu liegen kommt. Die obere Klammer des Trägers, E und F, ist 40 mm lang. Sie ist 10 mm vom freien Ende auf 5 mm eingeschnitten. Die letzten 10 mm Aluminium F werden senkrecht gebogen und in Form eines Kreisausschnittes gebracht, der die Außenseite der Kapsel aufnehmen kann. Die Kapsel wird mit einer Mutter an dem Aluminiumträger befestigt.

Wie die Abb. 1 zeigt, wird die Kapsel über Gummischläuche mit einem 2 l Volumengefäß und anschließend mit einem Quecksilbermanometer verbunden.

Abb. 1: Schematische Darstellung der Blutdruckkapsel und der Versuchsanordnung



Durchführung der Messung

Zur Durchführung der Messung wird das Ohr des Tieres rasiert und die Membran der Kapsel mit einer 70% Glycerin-Alkohollösung befeuchtet. Der dünne postero-laterale Rand des Ohres wird zwischen die beiden Aluminiumklammern genommen und die Kapsel so weit vorgeschoben, bis die Zentralarterie in der Mitte des Sichtfensters liegt. Während der Messung wird die Kapsel nicht mit der Hand gehalten, sondern sie muß nur angeklemmt am Ohr Halt finden. Der Druck im Inneren der Kapsel wird langsam erhöht. Der Querschnitt der Arterie reduziert sich und sie beginnt zu pulsieren.
Die Blutsäule bricht zuerst in der Diastole, dann in der Systole ab.

Der Innendruck der Kapsel, der eben ausreicht, die Blutsäule in der Systole zum Abbruch zu bringen, wird als systolischer Blutdruckwert des Tieres registriert. Bei vorsichtigem Ablassen des Druckes geht zu einem bestimmten Zeitpunkt die rhythmisch abbrechende Blutsäule in einen kontinuierlichen Blutstrom über. Der Druck, bei dem dies der Fall ist, wird als diastolischer Blutdruckwert vermerkt.

Nach zwei Kontrollmessungen wurde den Tieren eine Endotoxindosis von 6 µg/Kg Körpergewicht appliziert. Für eine Stunde wurde der Blutdruck alle 5 Minuten gemessen, für zwei weitere Stunden im 10-Minuten-Intervall. Jede Messung wurde vierfach durchgeführt und ein Mittelwert gebildet.

7. Prinzip der radioimmunologischen Bestimmung der Kenngrößen des Renin-Angiotensin Systems: Renin-Aktivität, Renin-Konzentration und Renin-Substrat Konzentration

Den allgemeinen Regeln der Enzymkinetik folgend setzt Renin bei der Inkubation, je nach vorliegender Substrat- und Enzymmenge, Angiotensinogen in Angiotensin I um.
Bei der Ermittlung der Plasma-Renin Aktivität (PRA) wird das Plasma unter unveränderten Enzym- und Substratverhältnissen inkubiert. Zur Bestimmung der Plasma-Renin Konzentration (PRC) wird dem Ansatz angiotensinogenreiches Plasma zugesetzt, so daß das Enzym im Bereich der Substratsättigung arbeitet. Zur Ermittlung der Plasma-Renin-Substrat Konzentration (PRSC) wird dem Plasmaansatz Renin zugegeben, so daß sich durch diesen Enzymüberschuß die vorhandene Substratmenge direkt im gebildeten Angiotensin I widerspiegelt. Die unter den vorgenannten Bedingungen freigesetzten Mengen Angiotensin I werden einheitlich im Radioimmunassay bestimmt und sind ein direktes Maß für die bezeichneten Größen.
Daher sollen hier zunächst, für die oben genannten Untersuchungen, die Arbeitsschritte bis zum Radioimmunassay getrennt dargestellt und die radioimmunologische Bestimmung gemeinsam behandelt werden.

A. Aufarbeitung der Plasmen

1. PRA-Bestimmung

Die bei -25°C eingefrorenen Plasmen werden langsam aufgetaut, gevortext und anschließend 10 Minuten bei 4000 U/min und +4°C zentrifugiert. Zu 0,5 ml Plasma werden 0,5 ml eines Enzyminhibitors pipettiert.

Zusammensetzung des Inhibitors:

1.	BAL	1 g
2.	8-Hydroxy-Chinolinsulfat	1,3 g
3.	$Na_2HPO_4 \times 2\ H_2O$	100 mg
4.	KH_2PO_4	21,7 g

Zubereitung des Inhibitors:

1. Puffer-Gemisch (3+4) in Lösung bringen mit ca. 800 ml Aqua bidest ..
2. 8-Hydroxy-Chinolinsulfat zugeben und lösen
3. 8% BAL-Lösung in abs. Äthanol zugeben und gut gemischt mit Aqua bidest. auf 1 l Gesamtvolumen auffüllen.

Der Ansatz wird lyophiliert und die Trockensubstanz bei +4°C im Kühlschrank gelagert. Für den Gebrauch werden je 241,2 mg der Substanz in 10 ml Aqua bidest. gelöst. Das Plasma-Inhibitor Gemisch (ph 5,7 - 5,9) wird in 4 Portionen zu 250 µl aufgeteilt. Das erste Röhrchen verbleibt als Vergleichswert (d-Wert) in Eis, die übrigen drei Proben werden 15'; 45' und 90' lang in einem Wasserbad bei +37°C inkubiert. Nach der vorgeschriebenen Zeit wird der Inkubationsvorgang durch Schwenken der Röhrchen in Eiswasser abgebrochen. Anschließend werden die Proben 10' bei 4000 U/min. zentrifugiert. Der gesamte Ablauf der Bestimmung wird im Eisbad durchgeführt.

2. PRC-Bestimmung

Zur Erzielung der Substratsättigung wird hier dem Reagenzienansatz angiotensinogenreiches Nephrektomieplasma von Kaninchen zugesetzt. Der Ansatz besteht aus:

1. 0,4 ml Nephrektomieplasma,
   welches nach dem Auftauen geschwenkt und zentrifugiert wird (15'; 4000 U/min.; +4°C). Vor Verwendung wird das Plasma mit 1n NaOH oder 1n HCL auf ph 6,5 eingestellt.
2. 0,35 ml 0,1 m Phosphatpuffer,
   welcher aus einer 0,1m Lösung von Na_2HPO_4 und einer 0,1m Lösung von KH_2PO_4 hergestellt wird, die man unter dem ph-Meter auf ph 6,5 einstellt.
3. 0,1 ml 0,1m EDTA-Lösung
4. 0,005 ml DFP (Diisopropylflourophosphat 5% in Isopropanol)

Aus Gründen der Einheitlichkeit und Genauigkeit wird für eine bestimmte Menge Testplasmen ein "Pool"aus diesen

vier Reagenzien zusammengestellt. Von diesem Pool werden 0,855 ml (= Gesamtvolumen des Ansatzes) zu jeweils 100 µl Plasma pipettiert. 0,5 ml werden 30' bei +37°C im Wasserbad inkubiert (= e-Wert), der Rest verbleibt als Vergleichswert (= d-Wert) in Eis. Die Inkubation wird durch Schwenken der Röhrchen in Eiswasser abgebrochen und die Proben werden daraufhin zentrifugiert. Zur Bestimmung im Radioimmunassay werden neben der unverändert belassenen Probe noch Verdünnungen im Verhältnis 1:2; 1:5 und 1:10 angefertigt. Zur Herstellung der Verdünnungen wird mit Rinderserum angereicherter 0,1m Phosphatpuffer mit ph 7,4 folgender Zusammensetzung hergestellt:

1.	1,06	g	Na_2HPO_4 x 2 H_2O
+2.	0,372	g	Na_2 x 2 H_2O
+3.	0,1	g	Rinderserumalbumin

3. PRSC-Bestimmung

Zur Bestimmung der Renin-Substrat Konzentration wird dem Reagenzienansatz aus Schweinenieren extrahiertes Renin (HOG-Renin; NBC (Nutritional Biochemical Company / Cleveland, USA); 100 Units gelöst in 10 ml Phosphatpuffer ph 6,5) zugesetzt. Der Ansatz besteht aus:

1.	0,4	ml	0,9%	NaCL-Lösung
+2.	0,06	ml	0,1m	EDTA-Lösung
+3.	0,01	ml		DFP
+4.	0,2	ml	0,5%	Neomycinsulfat
+5.	0,2	ml	0,1m	Phosphatpuffer (Beschreibung s.o.)
+6.	0,2	ml		HOG-Renin

Es wird hiervon ebenfalls ein Pool angefertigt und zu 50 µl Plasma werden 1,07 ml aus diesem Pool pipettiert. Der Ansatz wird 30' bei +37°C im Wasserbad inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation werden die Proben 5' gekocht, anschließend in Eis verbracht, geschüttelt und zentrifugiert. Diese Bestimmung wird in Saarstedt Versandröhrchen 101/16G/195GR mit Schraubverschluß durchgeführt. Zur Bestimmung im Radioimmunassay werden Verdünnungen im Verhältnis 1:5; 1:10; 1:20; 1:60 und evtl. 1:80 mit oben genanntem Phosphatpuffer hergestellt.

B. Durchführung des Radioimmunassays

Materialien

1. Phosphatpuffer 0,1m vom ph 7,4.
   Die genaue Herstellung wurde bereits oben beschrieben.

2. Phosphatpuffer 0,1m, ph 7,4
   der gleichen Zusammensetzung, nur ohne Rinderserumalbumin. Dieser Puffer dient zum Verdünnen des Antikörpers und des radioaktiv markierten Hormons.

3. Angiotensin I (AT I-5-L-Isoleucine),
   radioaktiv markiert mit dem Isotop ^{125}J, zu beziehen bei NEN (New England Nuclear) mit einer Gesamtaktivität von 10 µCurie in jedem Fläschchen. Der Gesamtinhalt des Behältnisses wird in 200 µl Aqua pro injektione gelöst und in 8 Portionen zu 25 µl und einer Volumenaktivität von 1,25 µCurie aufgeteilt. Diese 25 µl werden mit etwa 8 ml des oben beschriebenen Puffers ohne Rinderserumalbumin verdünnt und bei Bedarf so weiterverdünnt, daß 50 µl dieser Lösung in einem Gesamtvolumen von 750 µl im Szintillationszähler eine Zählrate zwischen 9000 cpm und 10 000 cpm ergeben.

4. Angiotensin I Antikörper,
   dankenswerterweise von Prof. Dr. GANTEN, Pharmakol. Institut der Universität Heidelberg zur Verfügung gestellt. Der Antikörper wird zur Anwendung 1:8000 verdünnt.

5. Angiotensin I Standard,
   Medical Research Coucil (MRC) / Couron, Mill Hill,
   mit einer Konzentration von 10 ng AT I/0,5 ml.

6. Dextran-Aktivkohle Suspension,
   die zur Adsorbierung des freien, d.h. nicht am Antikörper gebundenen, markierten Hormons dient.
   Dextran: Dextran T 70; Mol.-Gew.: 70 000; Pharmacia Fine Chemicals.
   Aktivkohle: Charcoal, activated; Sigma Ch. Comp.

   1 g Aktivkohle und 0,1 g Dextran werden in 66 ml des oben

beschriebenen Puffers mit Rinderserumalbumin gelöst und vor Verwendung 10' in Eis gerührt.

7. Lyophiliertes Kontrollserum Moni-trol I^{R}

zur Stabilisierung der Standardkurve.

Durchführung

1. Erstellen einer Verdünnungsreihe des Standards

zu den 0,5 ml der Arbeitslösung pipettiert man 0,5 ml des Phosphatpuffers (mit RSA) hinzu. Den weiteren Verlauf zeigt das Schema:

0,5 ml Stamm + 0,5 ml Puffer = Stan. X_1 (0,5 ng AT I)
0,5 ml Stan. X_1 + 0,5 ml Puffer = Stan. X_2 (0,25 ng AT I)
0,5 ml Stan. X_2 + 0,5 ml Puffer = Stan. X_3 (0,125 ng AT I)
0,5 ml Stan. X_3 + 0,5 ml Puffer = Stan. X_4 (0,0625 ng AT I)
0,5 ml Stan. X_4 + 0,5 ml Puffer = Stan. X_5 (0,o3125ng AT I)
0,5 ml Stan. X_5 + 0,5 ml Puffer = Stan. X_6 (0,01562ng AT I)
0,5 ml Stan. X_6 + 0,5 ml Puffer = Stan. X_7 (0,00781ng AT I)

2. Erstellen der Werte C; C+K und a

In den sogenannten "C-Wert", welcher der Gesamtaktivität entspricht, pipettiert man 700 µl Puffer und 50 µl Aktivität. In den Wert "C+K" werden ebenfalls 700 µl Puffer und 50 µl Aktivität pipettiert. Im Gegensatz zum C-Wert wird dieser Probe nach vollzogener Inkubation Aktivkohlegemisch zugegeben. Dieser Wert stellt ein Maß für die unspezifische, d.h. nicht am Antikörper vollzogene Bindung markierten Hormons dar. In den "a-Wert" wird neben 400 µl Puffer 50 µl Antikörper und 50 µl markiertes Hormon gegeben. Er gibt den "Nullpunkt" der Eichkurve an und ist ein Maß für die Größe der spezifischen Bindung zwischen Antikörper und Hormon.

3. Mit allen verbleibenden Röhrchen, sowohl denen der Standardkurve, als auch den zu untersuchenden Plasmaansätzen wird gleich verfahren. In alle Röhrchen wird 350 µl Puffer pipettiert. Hinzu kommen 50 µl aus der Verdünnungsreihe der Standardkurve oder den Plasmaansätzen und je 50 µl radioaktiv markiertes Hormon und Antikörper. Bei allen im Radioimmun-

Tabelle 1.

Materialien und Volumina im Radioimmunassay

- Alle Angaben in µl -

	C	C+K	A	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	P_1..P_x	
Stand.	---	---	---	50	50	50	50	50	50	50	---	---
Plasma	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	50	50
AT ^{115}J	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Antik.	---	---	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Monitrol^R	---	---	50	50	50	50	50	50	50	50	---	---
Vol.-ausgl.	50	50	---	---	---	---	---	---	---	---	50	50
Puffer	700	700	400	350	350	350	350	350	350	350	350	350

assay zu bestimmenden Proben wird eine Doppelbestimmung durchgeführt, außer bei den als Vergleichswerten bei der Inkubation dienenden d-Werten. Die Teströhrchen werden nach Zugabe des Antikörpers als letztem Schritt ca. 18 h bei +4°C inkubiert. Im Anschluß an diese Inkubation wird den Werten der Standardkurve, außer C und C+K, 50 µl Kontrollserum Moni-trol^{R} zugegeben. In alle verbleibenden Teströhrchen werden 50 µl Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin zum Volumenausgleich pipettiert. In jede Probe, mit Ausnahme des C-Wertes, werden 250 µl Aktivkohle-Dextran Suspension pipettiert. Die Suspension muß während dieses Vorgangs permanent im Eisbad gerührt werden. Die Röhrchen werden geschüttelt und bleiben 10' in Eis stehen. Hiernach wird bei +4°C und 4000 U/min. abzentrifugiert.
Bis zu diesem Punkt werden alle Arbeitsschritte im Eisbad durchgeführt. Nachdem die Proben zentrifugiert sind, kann bei Raumtemperatur weitergearbeitet werden. Der Überstand wird in neu beschriftete Röhrchen abdekantiert. Diese werden im Szintillationszähler (Gammazähler: Gammaszint 8 F 5300; Fa. Berthold) ausgezählt. Eine genaus Zusammenstellung der im Radioimmunassay verwendeten Materialien und Volumina ist der Tabelle 1 zu entnehmen.

C. Berechnung der Ergebnisse

Aus jedem Wertepaar einer Doppelbestimmung wird der Mittelwert gebildet. Weichen die Ergebnisse um mehr als 15% voneinander ab, werden sie nicht berücksichtigt. Die unspezifische Bindung errechnet sich nach:

$$\frac{C+K}{C} \times 100 \ (\%) = \text{unsp. Bind.} \ (\%)$$

Sie sollte den Wert 3% nicht überschreiten. Bei den 18 durchgeführten Radioimmunassays bewegte sich die unspezifische Bindung zwischen 1,7% und 4,4%, mit einem Mittel bei 3,07%. Die spezifische Bindung errechnet sich nach:

$$\frac{a}{C} \times 100 \ (\%) = \text{sp. Bind.} \ (\%)$$

Sie sollte zwischen 50% und 60% liegen. Bei den durchgeführten Assays schwankte die spezifische Bindung zwischen 50,0% und 65,9%. mit einem Mittel bei 58,0%.
Die Eichkurve erhält man, indem man die Impulse der Eichlösungen für die Standardkurve auf halblogarithmischem Papier gegen den Angiotensin I -Gehalt in ng/Röhrchen aufträgt. Der unbekannte Angiotensin I-Gehalt einer Probe ist nun, unter Einbeziehung der Verdünnungsfaktoren, leicht aus dem von der Standardkurve abgelesenen Wert zu errechnen. Es werden aus der Eichkurve abgelesene Werte nur im Bereich von etwa 0,015 ng AT I/ml bis 0,2 ng AT I/ml verwendet, was in etwa dem linearen Bereich der Standardkurve entspricht. Das Muster einer solchen Standardkurve ist in Abb. 2 dargestellt.

Berechnung der PRA

500 µl Testplasma werden mit 500 µl Inhibitor versetzt. Hiervon werden 250 µl inkubiert. Vom Inkubat werden 50 µl zur Bestimmung im Radioimmunassay verwendet. Der aus der Standardkurve abgelesene Wert entspricht also dem Angiotensin I-Gehalt von 25 µl Testplasma. Zur Umrechnung auf 1 ml ergibt sich demnach ein Faktor von:

$$K = \frac{1000\ \mu l}{25\ \mu l} = 40$$

Da die Endwerte aber als ng AT I/ml x h angegeben werden, ergibt sich als Gesamtumrechnungsfaktor für die Proben mit einer Inkubationszeit von

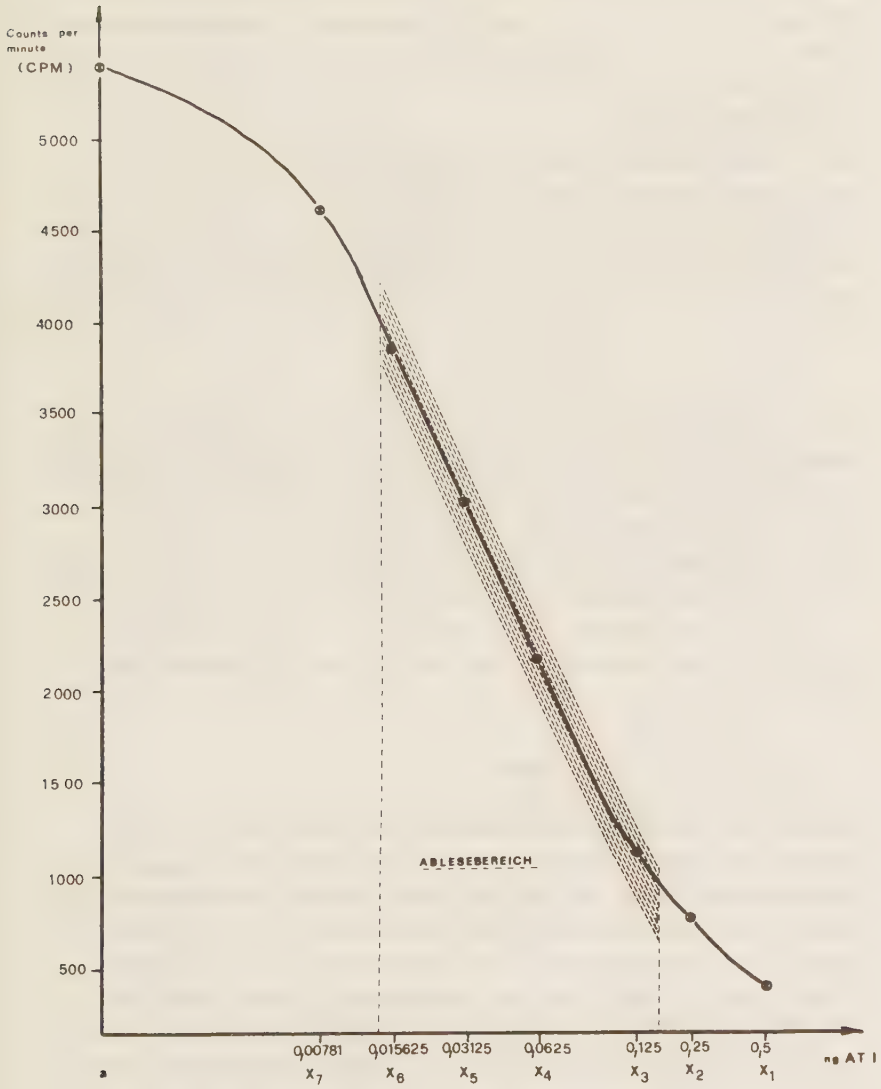
: 15' der Faktor: 40 x 4 x (e-d)
: 45' der Faktor: 40 x 4/3 x (e-d)
: 90' der Faktor: 40 x 2/3 x (e-d)

Aus diesen drei Ergebnissen wird der Mittelwert gebildet.

Berechnung der PRC

In dem Reagenzienansatz mit einem Gesamtvolumen von 995 µl befinden sich 100 µl Testplasma. Hiervon werden 500 µl inkubiert. Im Inkubat befinden sich daher 52,36 µl Testplasma. Vom Inkubat werden 50 µl in den Radioimmunassay eingebracht, d.h. im Assay befinden sich 5,236 µl Testplasma, deren Angiotensin I-Gehalt aus der Standardkurve abgelesen wird.

Abb. 2: Schematische Darstellung einer Standardkurve



Bei der unverdünnten Probe ergibt sich somit zur Umrechnung: (e-d) x 9,55 x 20 ng AT I/ml. Unter Einbeziehung der Verdünnungsstufen 1:2; 1:5 und 1:10 erfolgt die Umrechnung nach zusätzlicher Multiplikation mit den Faktoren: 2; 5 und 10.

Berechnung der PRSC

Der Reagenzienansatz hat ein Gesamtvolumen von 1,12 ml. Hierin sind enthalten 50 µl Testplasma. Von dem Ansatz werden 50 µl zur Bestimmung im Radioimmunassay entnommen, d.h. in diesen 50 µl sind 2,23 µl des Testplasmas enthalten. Für die Umrechnung auf 1 ml im Endwert ergibt sich folglich der Faktor:

$$K = \frac{1000\ \mu l}{2{,}23\ \mu l} = 448{,}4$$

Da die dem Reagenzienansatz entnommenen 50 µl noch verdünnt werden, muß dies in die Endausrechnung einbezogen werden. Es ergibt sich demnach bei einer Verdünnung von

: 1:5 der Faktor: e x 448,4 x 5 ng AT I/ml
: 1:10 der Faktor: e x 448,4 x 10 ng AT I/ml
: 1:20 der Faktor: e x 448,4 x 20 ng AT I/ml
: 1:60 der Faktor: e x 448,4 x 60 ng AT I/ml

Aus den sich so ergebenden Werten wird der Mittelwert gebildet.

8. Statistische Berechnungen

Für die Durchführung aller Rechnungen wurde ein Taschenrechner von Hewlett-Packard HP 25 verwendet. Die Standardabweichungen wurden mit Hilfe eines anderen Taschenrechners (Litronix) ermittelt. Für die Ausrechnung der Signifikanz diente ein Kleincomputer Olivetti Programma 1001. Mittels t-Test nach STUDENT, aus den wissenschaftlichen Tabellen von Geigy, wurden die Signifikanzschranken ermittelt. Als signifikant wurden p-Werte der Meßergebnisse gewertet mit: $p < 0{,}05$. Alle Mittelwerte und $\pm$ Abweichungen stellen das arithmetische Mittel und die Standardabweichungen dar.

III. ERGEBNISSE

1. Veränderungen des Blutdrucks

Unsere Kontrollmessung des Drucks vor Endotoxininjektion ergab einen Wert von 94±11/48±9 mm Hg. Ein in der Literatur (55) angegebener Normalwert mit dieser Messmethodik liegt höher, bei 113±10/71±10 mm Hg.
5' p.i. stieg der Blutdruck auf 99±11/55±11 mm Hg. Dieser Anstieg ist nicht signifikant, wurde aber bei jedem Tier beobachtet und kann als Reaktion auf das Manipulieren mit der Injektionsnadel gewertet werden. Der Druck fiel langsam, aber kontinuierlich ab und erreichte 35' p.i. mit 76±8/38±6 mm Hg einen Wert, der im Vergleich zum Kontrollwert signifikant ($p < 0{,}025$) um 18 mm Hg abgefallen war. 55' nach Injektion und im weiteren Verlauf der Messung war der Blutdruck nicht mehr signifikant vom Ausgangswert verschieden (Tab. 2 und Abb. 3). Von NIES und MELMON (37) wird nach Endotoxinapplikation beim Kaninchen ein Blutdruckabfall um 23 mm Hg 45' p.i., mit nachfolgendem Anstieg beschrieben.

Abb. 3: Blutdruckverlauf nach Endotoxingabe

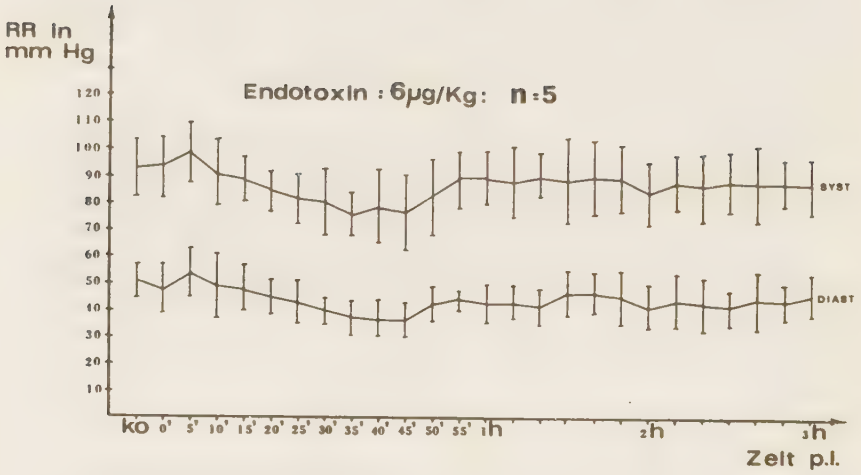


Tabelle 2.

Blutdruckveränderungen nach Injektion von 6 µg/kg Endotoxin

Anzahl der Tiere: n=5

Zeit p.i.	RR syst. ± SD	RR diast. ± SD
Ko.	93±11	51± 6
Ko.	94±11	48± 9
5'	99±11	54± 9
10'	91±12	49±12
15'	89± 8	48± 7
20'	85± 7	45± 6
25'	82± 9	44± 8
30'	81±12	40±12
35'	76± 8	38± 6
40'	79±13	37± 7
45'	77±14	37± 6
50'	83±15	43± 6
55'	90±11	44± 4
1h 00'	90±10	43± 7
1h 10'	88±13	43± 6
1h 20'	90± 8	42± 7
1h 30'	89±17	47± 8
1h 40'	90±14	47± 7
1h 50'	90±12	46±10
2h 00'	84±12	41±14
2h 10'	88±10	44±10
2h 20'	87±12	43±10
2h 30'	89±11	42± 6
2h 40'	88±14	45±11
2h 50'	88± 8	44± 6
3h 00'	87±10	46± 7

2. Veränderungen der PRC nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und 3 µg/kg

Als Normalwert der PRC beim Kaninchen ergab sich in unserer Untersuchung: 7,4±2,5 ng AT I/ml (n=45).

Endotoxingabe von 6 µg/kg

Die PRC zeigt bereits 3 h nach Endotoxininjektion einen steilen Anstieg und ist hier mit 21,6±8,1 ng AT I/ml signifikant ($P < 0,0025$; n=9) gegenüber dem Ausgangswert erhöht. Die maximalen PRC-Werte betragen 29,4±11,6 ng AT I/ml und werden, bei einer Zunahme um 460% im Vergleich zum 0 h-Wert, 6 h nach Injektion gefunden ($p < 0,0005$; n=9). Die Renin-Konzentration ist bei 9 h mit 24,6±9,3 ng AT I/ml ($p < 0,0005$; n=8) und nach 12 h mit 15,5±4,4 ng AT I/ml ($p < 0,0025$; n=6) noch signifikant erhöht. Bei 24 h; 48 h und 72 h ist kein signifikanter Unterschied mehr zu Ausgangs- und Normalwerten vorhanden (siehe Abb. 4 und Tab. 3).

Endotoxingabe von 3 µg/kg

Bei diesen Tieren mit einer niedrigeren Endotoxindosis sind die PRC-Werte nach 3 h mit 13,5±6,2 ng AT I/ml und 6 h mit 14,1±4,5 ng AT I/ml im Vergleich zum Ausgangswert (4,9±2,1 ng AT I/ml) ebenfalls signifikant erhöht ($p < 0,01$; n=6 und $p < 0,0025$; n=6). Der 6 h-Wert ist jedoch, im Vergleich zum Ausgangswert, nur auf 280 % angestiegen. Ähnlich der vorigen Gruppe sind die Werte nach 9 h (11,9±5,0 ng AT I/ml) und 12 h (10,6±5,4 ng AT I/ml) noch signifikant erhöht ($p < 0,01$; n=6 und $p < 0,25$; n=6), während 24 h, 48 h und 72 h p.i. kein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert vorhanden ist (siehe Abb. 5 und Tab. 3).

Abb. 4: Verlauf der PRC nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und bei Kontrolltieren

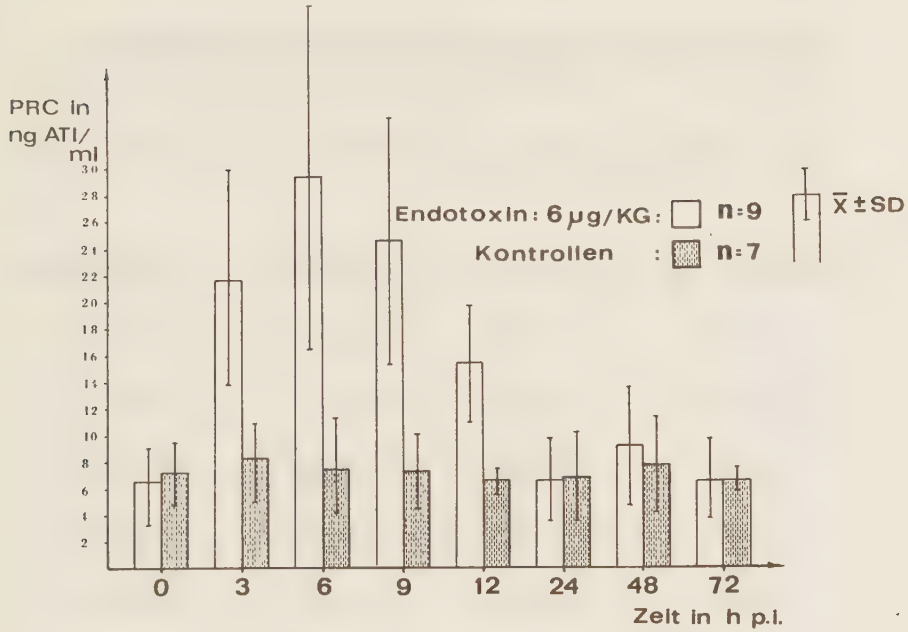


Abb. 5: Verlauf der PRC nach Endotoxingabe von 3 µg/kg

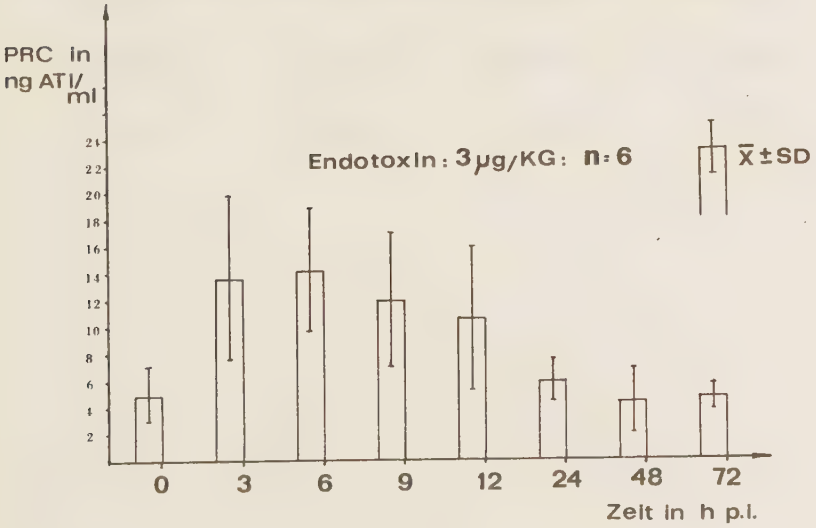


Tabelle 3.

PRC-Veränderungen bei Kontrolltieren und nach Injektion von 6 µg/kg und 3 µg/kg Endotoxin

Anzahl der Tiere: Kontr.: n=7; 6 µg/kg: n=9; 3 µg/kg: n=6.
- Alle Angaben in ng AT I/ml -

Zeit in h p.i.	Kontrollen	6 µg/kg Endot.	3 µg/kg Endot.
0 h	7,1±2,3	6,5±3,4	4,9±2,1
3 h	8,3±3,0	21,6±8,1	13,5±6,2
6 h	7,4±3,7	29,4±11,6	14,1±4,5
9 h	7,4±2,7	24,6±9,3	11,9±5,0
12 h	6,6±0,9	15,5±4,4	10,6±5,4
24 h	6,8±3,4	6,6±3,2	5,9±1,3
48 h	7,8±3,6	9,2±4,6	4,3±2,5
72 h	6,7±0,6	6,6±2,8	4,7±1,0

Tabelle 4.

PRA-Veränderungen bei Kontrolltieren und nach Injektion von 6 µg/kg und 3 µg/kg Endotoxin

Anzahl der Tiere: Kontr.: n=7; 6 µg/kg: n=9; 3 µg/kg: n=6.
- Alle Angaben in ng AT I/ml x h -

Zeit in h p.i.	Kontrollen	6 µg/kg Endot.	3 µg/kg Endot.
0 h	5,0±2,8	4,6±2,4	3,0±1,0
3 h	4,9±3,2	13,1±5,9	8,0±4,0
6 h	3,8±2,0	17,2±6,4	10,6±5,2
9 h	4,0±2,6	14,0±4,9	9,0±4,0
12 h	2,3±1,8	7,4±1,2	7,8±3,4
24 h	4,8±3,2	4,0±3,2	5,4±1,4
48 h	4,9±4,4	4,7±3,5	4,0±3,0
72 h	1,3±0,2	2,5±1,9	3,6±1,4

3. Veränderungen der PRA nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und 3 µg/kg

Als Normalwert der PRA ergab sich in unserer Untersuchung: 4,2±2,9 ng AT I/ml x h)n=46). Ein in der Literatur (38) angegebener Normalwert beim Kaninchen, ermittelt mit gleicher Messmethodik, beträgt: 4,5±0,2 ng AT I/ml x h (n=14).

Endotoxingabe von 6 µg/kg

Der O h-Kontrollwert beträgt: 4,6±2,4 ng AT I/ml x h (n=9). Es besteht kein signifikanter Unterschied zum Normalwert. Die PRA ist 3 h nach Endotoxininjektion mit 13,1±5,9 ng AT I/ml x h signifikant im Vergleich zum Ausgangswert erhöht ($p < 0,005$; n=9) und bei 6 h hochsignifikant angestiegen mit: 17,2±6,4 ng AT I/ml x h ($p < 0,0005$; n=9). Zu diesem Zeitpunkt wird das Maximum des PRA-Anstiegs beobachtet, mit einer Steigerung auf 380% des Ausgangswertes. Nach einem kontinuierlichen Abfall ist bei 24 h, 48 h und 72 h kein signifikanter Unterschied mehr zum Initialwert zu beobachten (siehe Abb. 6 und Tab. 4).

Endotoxingabe von 3 µg/kg

Der O h-Kontrollwert beträgt: 3,0±1,0 ng AT I/ml x h und ist somit etwas geringer als der Vergleichswert der vorigen Gruppe. Dies ist verständlich aus der Tatsache, daß die PRC bei dieser Tiergruppe zum Zeitpunkt O h, bei vergleichbaren Substratwerten, niedriger liegt. Nach 3 h erfolgt ein signifikanter Anstieg der PRA auf 8,0±4,0 ng AT I/ml x h ($p < 0,0125$; n=6). Das Maximum der Renin-Aktivität wird hier ebenfalls nach 6 h mit 10,6±5,2 ng AT I/ml x h beobachtet ($p < 0,0125$; n=6). Der Absolutwert liegt bei 6 h zwar unter der Tiergruppe mit 6 µg/kg, der prozentuale Anstieg im Vergleich zum Ausgangswert ist mit 350% jedoch fast gleich. Die PRA fällt im weiteren Verlauf wieder kontinuierlich ab, erreicht aber, im Gegensatz zur Tiergruppe mit 6 µg/kg, erst nach 48 h und 72 h Werte, die nicht signifikant vom Basalwert verschieden sind (siehe Abb. 7 und Tab. 4).

Abb. 6: Verlauf der PRA nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und bei Kontrolltieren

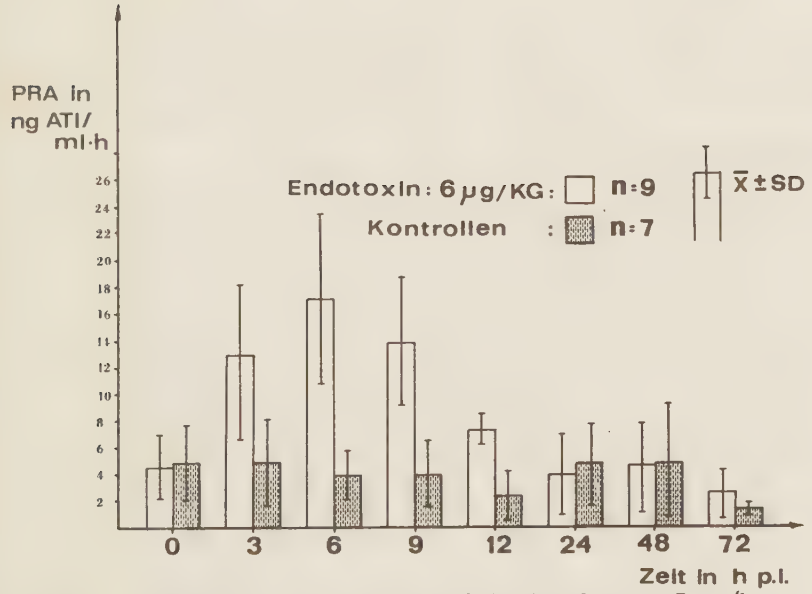
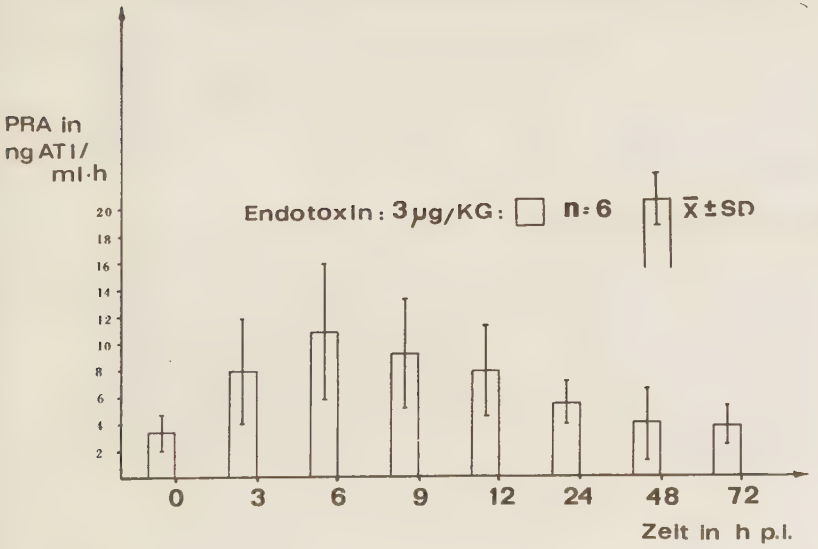


Abb. 7: Verlauf der PRA nach Endotoxingabe von 3 µg/kg



4. Veränderungen der PRSC nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und 3 µg/kg

Bei der Bestimmung der PRSC ergab sich bei uns ein Normalwert von 543±140 ng AT I/ml (n=47). Ein in der Literatur (38) angegebener Normalwert beim Kaninchen, mit gleicher Bestimmungsmethodik beträgt: 483±129 ng AT I/ml.

Endotoxingabe von 6 µg/kg

Von einem Basalwert von 505±183 ng AT I/ml zeigt die Substratkonzentration eine kontinuierlich steigende Tendenz und ist 48 h p.i. mit 1218±282 ng AT I/ml signifikant ($p < 0,0005$; n=9) gegenüber dem Ausgangswert und dem Kontrollkollektiv erhöht. Der Anstieg der Werte 3 h, 6 h und 9 h nach Endotoxingabe ist nicht signifikant. Erst 12 h (811±274 ng AT I/ml) und 24 h (941±213 ng AT I/ml) p.i. werden signifikant ($p < 0,05$; n=6 und $p < 0,0025$; n=8) erhöhte Konzentrationen gefunden. Der Anstieg zwischen 24 h und 48 h ist nicht signifikant, jedoch ergibt die Einzelwertauftragung (Abb. 9), daß hier 7 von 9 Tieren eine deutlich steigende Tendenz zeigen. Von 48 h auf 72 h zeigt die Abb. 8 einen Abfall der PRSC, der allerdings nicht signifikant ist. Die Auftragung der Einzelwerte (Abb. 9) ergibt, daß drei der vier bis 72 h verfolgten Tiere noch einen leichten Substratenanstieg zeigen. Die Werte sind zum Zeitpunkt 72 h noch signifikant gegenüber dem Ausgangswert erhöht ($p < 0,0025$), es kann aber keine sichere Aussage darüber gemacht werden, ob hier eine steigende oder fallende Tendenz vorliegt.

Endotoxingabe von 3 µg/kg

Der 0 h-Wert in dieser Gruppe erscheint gegenüber den Kontrollwerten mit 691±231 ng AT I/ml erhöht. Dies wird jedoch, wie die Abb. 11 zeigt, durch den eminent hohen Basalwert eines Tieres hervorgerufen. Die PRSC zeigt hier, gegenüber den Tieren mit 6 µg/kg einen deutlich anderen Verlauf (Abb. 10). Bei 3 h ist die Substratkonzentration nicht signifikant vom Ausgangswert verschieden. Bei 6 h ergibt sich ein sig-

Abb. 8: Verlauf der PRSC nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und bei Kontrolltieren

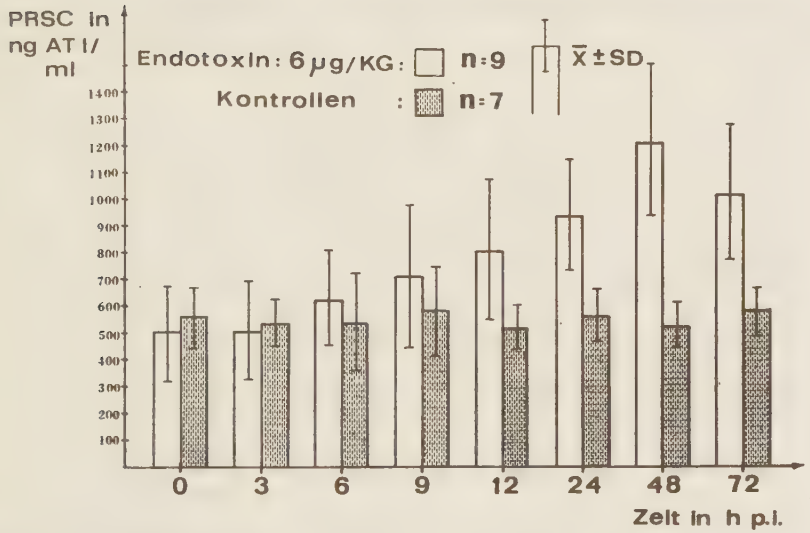


Abb. 9: Verlauf der PRSC nach Endotoxingabe von 6 µg/kg - Einzelwertauftragung -

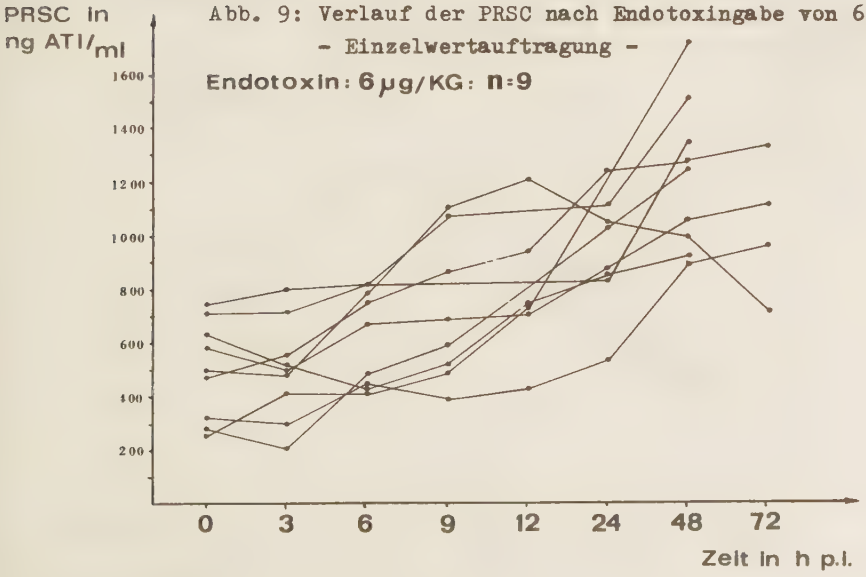


Abb. 10: Verlauf der PRSC nach Endotoxingabe von 3 µg/kg

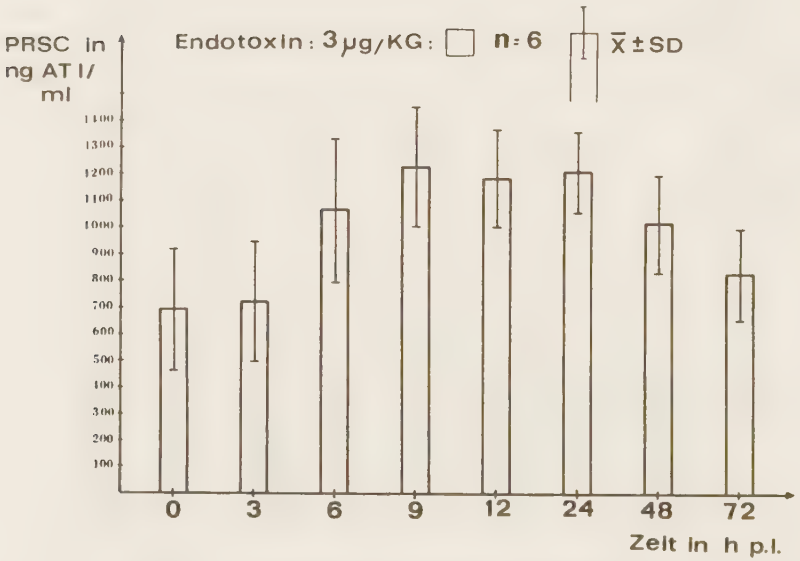


Abb. 11: Verlauf der PRSC nach Endotoxingabe von 3 µg/kg
- Einzelwertauftragung -

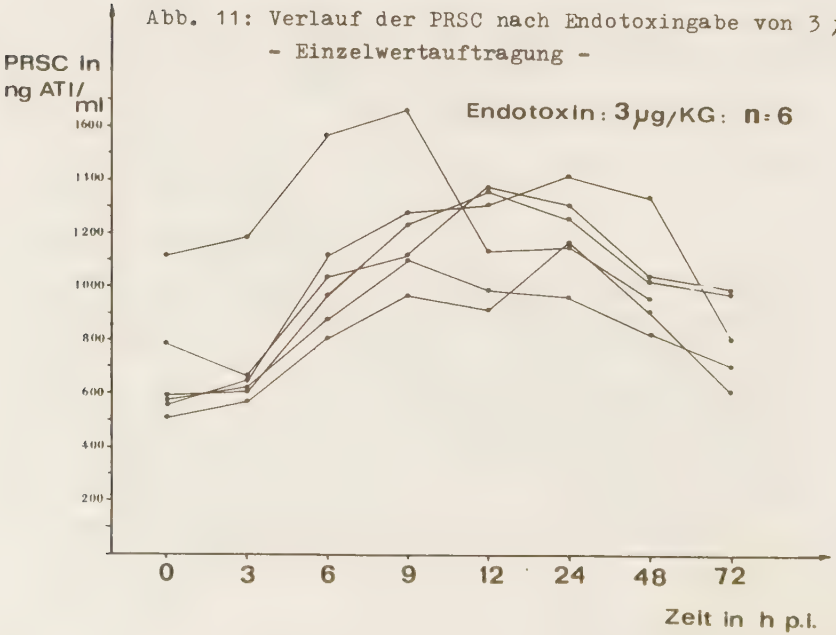


Tabelle 5.

PRSC-Veränderungen bei Kontrolltieren und nach Injektion von 6 µg/kg und 3 µg/kg Endotoxin

Anzahl der Tiere: Kontr.: n=7; 6 µg/kg: n=9; 3 µg/kg: n=6.
- Alle Angaben in ng AT I/ml -

Zeit in h p.i.	Kontrollen	6 µg/kg Endot.	3 µg/kg Endot.
0 h	560±116	505±183	991±231
3 h	535± 90	506±183	718±232
6 h	539±187	624±178	1065±271
9 h	586±171	716±272	1227±235
12 h	519± 84	811±274	1180±198
24 h	567±101	941±213	1210±154
48 h	530± 85	1218±282	1017±178
72 h	594± 94	1024±255	822±169

nifikanter ($p < 0,05$; n=6) Anstieg mit 1065±271 ng AT I/ml. Nach 9 h wird mit 1227±235 ng AT I/ml ein Maximum der PRSC beobachtet. Bei 12 h (1180±198 ng AT I/ml) und 24 h (1210±154 ng AT I/ml) sind die Substratkonzentrationen auf gleichem Niveau signifikant ($p < 0,01$; n=6) gegenüber dem Ausgangswert erhöht. Von 24 h p.i. an erfolgt ein signifikanter Abfall auf den 72 h-Wert (822±169 ng AT I/ml) ($p < 0,005$; n=5), welcher nicht mehr vom Initialwert verschieden ist ($p > 0,05$).

5. Veränderungen von Gesamteiweiß und Hämatokrit

Als Normalwert der Gesamteiweißkonzentration im Plasma ergab sich in unserer Untersuchung: 5,9±0,54 g% (n=47). Dies deckt sich mit einer Angabe in der Literatur (15). Die Gesamteiweißkonzentration war, sowohl bei der 6 µg/kg-Gruppe als auch der 3 µg/kg-Gruppe über die gesamte Dauer der Versuche nicht signifikant verändert. Ein leichter, aber nicht signifikanter Abfall um etwa 0,5 g% in der Zeit zwischen 6 h und 12 h, kann wohl auf die Blutentnahme (5 ml) und die Substitution durch Haemaccel^{R} zurückgeführt werden (siehe Abb. 12 und Tab. 6).
Der Hämatokrit wurde nur bei Tieren mit 6 µg/kg Endotoxin gemessen und bis 48 h verfolgt. Als Normalwert ergab sich 33,4 ±3,5 % (n=39). In der Literatur angegebene Werte sind 36,7 % (56) und 35 % (15). Wie das Gesamteiweiß zeigte der Hämatokrit keine signifikanten Veränderungen im Verlauf der Versuche (siehe Abb. 14 und Tab. 7).

Abb. 12: Verlauf des Gesamteiweiß nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und bei Kontrolltieren

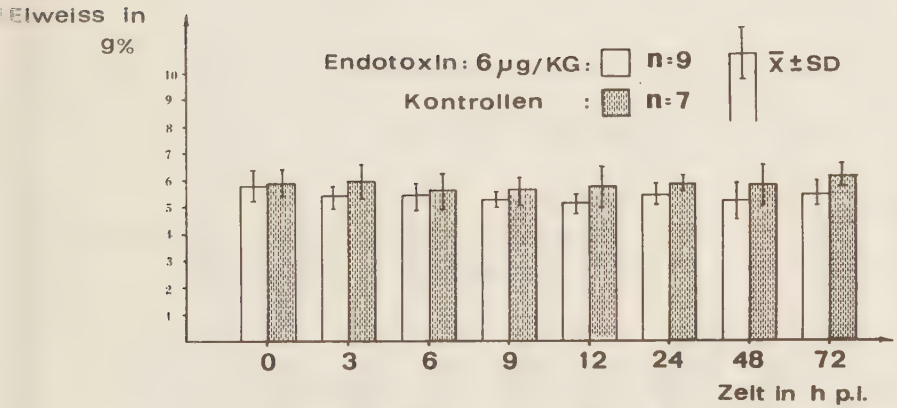


Abb. 13: Verlauf des Gesamteiweiß nach Endotoxingabe von 3 µg/kg

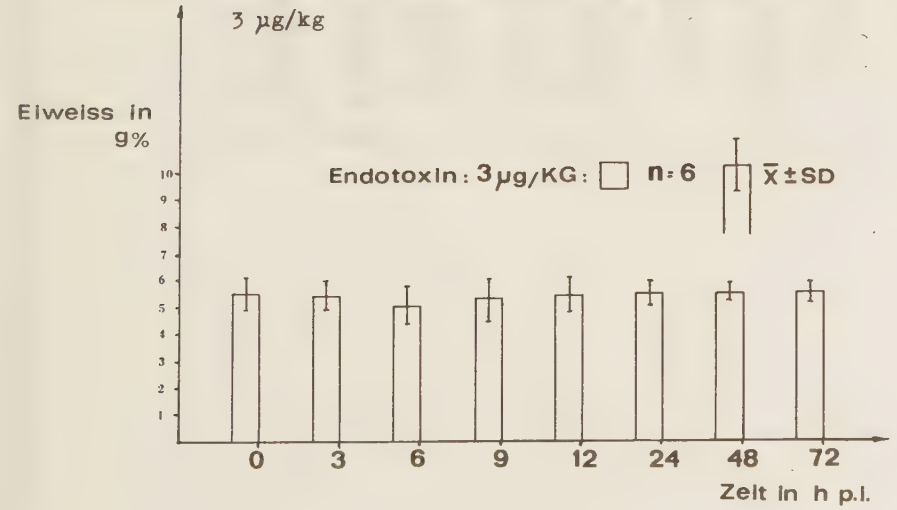


Abb. 14: Verlauf des Hämatokrit nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und bei Kontrolltieren

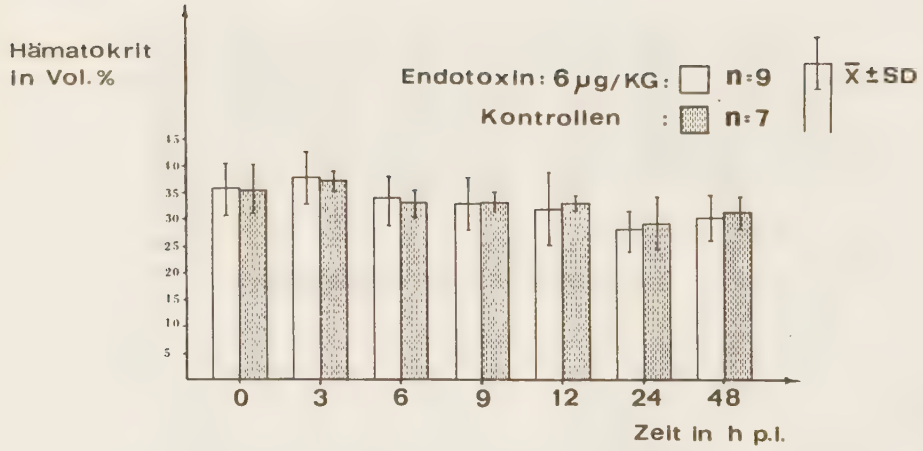


Tabelle 6.

Gesamteiweißveränderungen bei Kontrolltieren und nach Injektion von 6 µg/kg und 3 µg/kg Endotoxin

Anzahl der Tiere: Kontr.: n=7; 6 µg/kg: n=9; 3 µg/kg: n=6.
- Alle Angaben in g% -

Zeit in h p.i.	Kontrollen	6 µg/kg Endot.	3 µg/kg Entod.
0 h	5,9±0,5	5,7±0,8	5,5±0,6
3 h	6,0±0,6	5,3±0,3	5,4±0,5
6 h	5,7±0,6	5,4±0,5	5,1±0,7
9 h	5,7±0,5	5,3±0,2	5,3±0,8
12 h	5,8±0,7	5,1±0,3	5,5±0,6
24 h	5,9±0,3	5,5±0,3	5,5±0,4
48 h	5,9±0,7	5,3±0,7	5,6±0,3
72 h	6,2±0,3	5,5±0,5	5,6±0,3

Tabelle 7.

Hämatokritveränderungen bei Kontrolltieren und nach Injektion von 6 µg/kg Endotoxin

Anzahl der Tiere: Kontr.: n=7; 6 µg/kg: n=9.
- Alle Angaben in % -

Zeit in h p.i.	Kontrollen	6 µg/kg Endot.
0 h	35,4±4,4	35,7±4,9
3 h	37,3±1,8	37,6±4,7
6 h	33,2±1,9	33,6±4,3
9 h	33,4±1,7	33,1±4,7
12 h	33,0±0,8	32,2±7,0
24 h	29,0±4,9	28,5±3,1
48 h	31,0±2,4	30,0±4,0

IV. DISKUSSION

Beziehung zwischen vasoaktiven Substanzen, Blutdruckveränderungen und Reninfreisetzung.

Endotoxine lösen kurz nach Injektion in Abhängigkeit von der injizierten Dosis massive Reaktionen des cardiovaskulären Systems aus. Ein Abfall des arteriellen Drucks, bedingt durch veränderten peripheren Widerstand, kann bei den meisten Spezies auf eine Ausschüttung vasoaktiver Substanzen zurückgeführt werden. Den Kininen, wie Bradykinin und Kallidin, als den wirksamsten endogenen Vasodilatatoren, wird eine wesentliche Beteiligung an den hämodynamischen Veränderungen in der Frühphase des Endotoxinschocks beigemessen. Mit abfallendem arteriellen Druck wird ein Anstieg der Plasma-Kinin Konzentration festgestellt, gleichzeitig ist der Kininogenspiegel erniedrigt (36,41). Weiterhin konnten unmittelbar nach Endotoxinapplikation erhöhte Histamin-Konzentrationen nachgewiesen werden (29,41,51). Eine erhöhte Aktivität der Histidin-Decarboxylase wurde ebenfalls beschrieben (41). WHITE et al. fanden nach Endotoxinininjektion am Hund einen abrupten Abfall des arteriellen Drucks und der Nierendurchblutung. Diese Veränderungen gingen einher mit einer Aktivierung des Renin-Angiotensin Systems mit signifikant erhöhten Angiotensin-II Plasmaspiegeln 30' bis 60' nach der Injektion. Ein Anstieg der renalen Renin-Sekretion und damit Renin-Konzentration oder PRA im Plasma nach akuter arterieller Hypotension unterschiedlicher Genese wird in der Literatur an einigen Stellen beschrieben (1,16,21,32,43). Es bestehen aber unterschiedliche Auffassungen über die Frage, ob die Reninfreisetzung Folge einer renalen Ischämie ist oder über die Aktivierung von Barorezeptoren verläuft. Für das Zutreffen der Barorezeptortheorie werden Beobachtungen angeführt, daß bei Verminderung des renalen, arteriellen Drucks Renin freigesetzt wird trotz gleichbleibender (16,43) oder sogar gesteigerter Nierendurchblutung (1). Während nach SKINNER et al.(43) dieser Regulationsmechanismus so empfindlich ist, daß Druckveränderungen von 15 bis 20 mm Hg eine gesteigerte Reninsekretion bewirken, zeigen andere Befunde eine veränderte Reninfreisetzung erst nach Verminderung des Drucks unter das Niveau der Autoregulation (1,16). Die Beteiligung einer

renalen Ischämie an der Reninfreisetzung wurde unter anderem ausgeschlossen durch die Beobachtung einer konstanten Nierendurchblutung während der Druckverminderung. Dies kann aber insofern nicht als beweisend gelten, da trotz gleichbleibender Gesamtnierendurchblutung eine Blutumverteilung in der Nierenrinde beschrieben wurde, die zu einer Ischämie der äußeren Kortexzonen führt (1,2,24). Weiterhin muß in diesem Zusammenhang berücksichtigt werden, daß Renin in der Nierenrinde nicht homogen verteilt ist. Die höchsten Konzentrationen wurden in den äußeren Kortexzonen gemessen (21,30). Für eine Reninfreisetzung durch Hypoperfusion der Nierenrinde scheint auch die Beobachtung zu sprechen, daß der Grad der corticalen Ischämie sich proportional zum Anstieg der Reninsekretion verhält (8).

Es ist bekannt, daß die Veränderungen von z.B. Blutdruck, peripherem Widerstand und Herzminutenvolumen nach Endotoxininjektion eine deutliche Speziesabhängigkeit aufweisen (9, 25,37,42,56). Nach Untersuchungen von NIES et al. zeigt das Kaninchen nach Endotoxinapplikation deutlich andere cardiovaskuläre Reaktionen als z.B. der Affe (37,56) oder der Hund (47). Am nicht narkotisierten Kaninchen fällt nach Endotoxingabe das Herzminutenvolumen ab, gleichzeitig ist der periphere Widerstand stark erhöht. Auf diese Weise bleibt der arterielle Druck nahezu unverändert (37,56).

Die von uns gefundenen Blutdruckwerte stimmen sowohl im Grad des Abfalls als auch im zeitlichen Verlauf mit diesen Befunden überein. Es wurden weiterhin nur geringe Veränderungen im Plasma-Kinin- und Kininogenspiegel beobachtet (15, 37) mit der Schlußfolgerung, daß diese vasoaktiven Substanzen beim Kaninchen nicht direkt an der Schockentwicklung beteiligt sind. Hieraus kann geschlossen werden, daß der in den vorliegenden Befunden beobachtete Anstieg der Plasma-Renin-Werte nicht hauptsächlich auf einen Abfall des arteriellen Drucks zurückzuführen ist.

Bedeutung von Katecholaminen und nervalen Mechanismen

Nach Endotoxininjektion kommt es zu einer Aktivierung endogener Stressmechanismen des sympathico-adrenalen Systems. Auf die Bedeutung des sympathischen Nervensystems und zirkulierender Katecholamine für den Schockverlauf wird in der Literatur vielfach hingewiesen (24,25,28,51,56). So wurde nach Endotoxinapplikation bei Hund und Katze ein signifikanter Anstieg der Katecholaminspiegel beschrieben (25,44,51). Die Reaktionen auf Endotoxin sind speziesabhängig und fallen unterschiedlich aus, wenn die Versuche mit oder ohne Narkose durchgeführt werden. Es ergibt sich daher eine besondere Relevanz für die Ergebnisse von WYLER et al. (56), die die cardiovaskulären Veränderungen nach Endotoxin am nicht narkotisierten Kaninchen untersuchten. Der Blutdruck zeigte sowohl nach Endotoxin als auch nach Hämorrhagie keine signifikanten Veränderungen. Es ergab sich eine Zunahme des Gefäßwiderstandes in allen Organen, außer den Cerebral- und Coronargefäßen und der Endstrombahn der Leber. Der stärkste Anstieg wurde in Milz, Haut und Niere gemessen. Der Gefäßwiderstand der Niere stieg um das Dreifache, während die Durchblutung auf weniger als 1/3 abfiel. Es konnte weiterhin am Kaninchen eine signifikante Erhöhung der Plasma-Adrenalinspiegel nach Endotoxininjektion nachgewiesen werden bei gleichzeitig vermindertem Katecholamingehalt der Nebennieren (28). Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die spezifische Reaktion des Kaninchens auf eine Endotoxinämie in einer erhöhten sympathico-adrenalen Aktivität besteht, die sich bei nur geringer Blutdruckabnahme in einer generalisierten Vasokonstriktion und Erhöhung des Gefäßwiderstandes, insbesondere auch der Niere, äußert. Eine besondere Bedeutung gewinnen die erhöhten Katecholaminspiegel noch durch die Beobachtung, daß nach Injektion kleiner Dosen Endotoxin die Gefäßantwort auf Adrenalin in Form einer extremen Hyperreaktivität zunimmt (13,48,57). Die aufgeführten hormonellen Veränderungen sind durchaus in der Lage, über entsprechende Mechanismen eine Reninfreisetzung aus den juxtaglomerulären Zellen zu bewirken. Auch dem vegetativen Nervensystem wird ein bedeutungsvoller Einfluß auf die renale Hämodynamik all-

gemein (4,49) und auf die Reninsekretion eingeräumt, vermittelt sowohl auf nervalem Wege als auch durch Katecholaminfreisetzung. Dies wird gestützt durch experimentelle Befunde und durch anatomische Beobachtungen. So konnten Nervenendigungen in renalen Arteriolen, die granulierte juxtaglomeruläre Zellen tragen, nachgewiesen werden (3,52). Nach Denervierung ist der Reningehalt der Nieren vermindert (46), die Reninaktivität im Plasma und die Reninsekretion fallen ab (5). Der Reninanstieg bei Hypertension, erzeugt durch Denervierung der Pressorrezeptoren in Carotis und Aorta, läßt sich durch renale Denervierung verhindern (46). Ebenso kann der Reninanstieg unter salzfreier Diät durch Denervierung vermindert (12,50) oder aufgehoben werden (33). Direkte Reizung der renalen Nerven und Katecholamininfusionen ziehen eine erhöhte Reninsekretion nach sich (12, 50). Eine geringgradige Hämorrhagie kann ohne Veränderung des Blutdrucks und der Nierendurchblutung einen Reninanstieg bewirken, der nach Lokalanästhesie der Nerven und Gabe von Ganglilienblockern nicht mehr zu verzeichnen ist. Diese Beobachtungen lassen den Einfluß des vegetativen Nervensystems und zirkulierender Katecholamine auf die Reninfreisetzung deutlich erkennen.

Aufgrund der angeführten sympathico-adrenalen Veränderungen bei einer Endotoxinämie des Kaninchens und der Bedeutung eines solchen Stimulus für die Reninfreisetzung scheint die Annahme berechtigt, daß die in unseren Untersuchungen gefundene Aktivierung des Renin-Angiotensin Systems im wesentlichen durch eine nerval-hormonelle Einwirkung auf die Niere vermittelt wird. Der genaue Mechanismus, durch den renale Nerven und Katecholamine eine Reninfreisetzung bewirken, ist noch nicht endgültig geklärt, und es kann auch aufgrund der hier vorliegenden Befunde keine Aussage darüber gemacht werden. Veränderungen im Tonus der afferenten Arteriolen könnten Barorezeptoren in den juxtaglomerulären Zellen aktivieren. Da Nervenendigungen an diesen Zellen nachgewiesen wurden, könnte hierdurch direkt eine Reninfreisetzung ausgelöst werden, oder daß der durch Vasokonstriktion

bedingte Abfall der glomerulären Filtration über Elektrolytveränderungen an der Macula densa einen adäquaten Stimulus darstellt.

Veränderung der Renin-Substrat-Konzentration; Bedeutung von Angiotensin II, humoralen und nervalen Faktoren.

In der Literatur sind Situationen beschrieben, in denen ein erhöhtes Plasma-Renin-Substrat einhergeht mit unveränderten Reninwerten (39) oder gleichzeitig gesteigerter Reninsekretion (35). Ferner ist die Angiotensinogenkonzentration unverändert nach Renininjektion (47), Salzmangel (23) und Dehydratation (7) trotz erhöhter Reninkonzentration. Entsprechende Beobachtungen werden auch durch die vorliegenden Ergebnisse unterstrichen. Da sich der zu erwartende erhöhte Substratverbrauch nicht auf die Angiotensinogenkonzentration auswirkt, muß ein regulativer Mechanismus in Form einer gesteigerten Substratsynthese vorliegen (6). Hieraus kann geschlossen werden, daß die Plasma Renin-Substrat-Konzentration abhängig ist von der Synthese- und Abbaurate. Die Reninfreisetzung bzw. die Renin-Konzentration und auch die Synthese von Angiotensinogen durch die Leber gehen in die aktuelle Renin-Substrat-Konzentration ein (27,18,35). Eine Freisetzung gespeicherten Angiotensinogens als Teil dieses Regulationsmechanismus wird als nicht zutreffend erachtet (18,19). Während der Abbau des Angiotensinogens durch Renin bewirkt wird, sind für die Beeinflussung der Synthese in der Literatur einige Faktoren beschrieben, deren genaues Zusammenspiel und endgültige Relevanz aber noch nicht voll erfaßt sind. Es erscheint daher zweckmäßig, bei der in-vivo-Beurteilung von Substratveränderungen der möglichen Beteiligung jedes einzelnen Faktors Rechnung zu tragen. Eine induktive Wirkung von Angiotensin II auf die Renin-Substrat-Synthese wird von einigen Autoren beschrieben (6,31,35). Eine Infusion von Angiotensin II erhöht die Substratwerte signifikant bei gleichzeitigem Abfall der Plasma-Renin-Konzentration, wobei der Anstieg der Angiotensinogenspiegel mit einer Latenz von 2 bis 4 Stunden erfolgt (6,35). Den Anstieg der Substratwerte könnte man darauf zurückführen,

daß bei konstanter Angiotensinogensynthese die Reninsekretion durch Angiotensin II gehemmt wird und so durch mangelnden Verbrauch eine Steigerung der Plasmakonzentration bewirkt wird (6,31,35). Diesem Effekt wird eine zusätzliche Wirkung eingeräumt, die alleinige Erklärung der erhöhten Substratspiegel hierdurch wird hingegen verneint. Die direkt stimulierende Wirkung von Angiotensin II auf die Renin-Substrat-Synthese wird auch durch die Befunde von NASSJLETTI und MASSON (35) unterstrichen, die an der isoliert perfundierten Rattenleber in vivo nach Zugabe von Angiotensin II zum Perfusionsmedium eine Steigerung der Substratsynthese beobachteten.
Trotz dieser Beobachtungen stellt Angiotensin II nicht den allein ausschlaggebenden Faktor für die Regulation der Substratsynthese dar. Nach bilateraler Nephrektomie steigt der Plasma-Angiotensinogenspiegel auf ein Maximum zwischen 6 und 48 Stunden an (19), gleichzeitig fällt das Plasma-Renin auf fast unbestimmbare Werte ab. Für diesen Effekt ist zum Teil ein fehlender Substratverbrauch verantwortlich zu machen (18). Auf der anderen Seite steigt jedoch die Substratsyntheserate nach Nephrektomie, gemessen an isolierten Rattenleberstreifen, rapide an (18,19). Einen Aufschluß über die gesteigerte Synthese gibt die Beobachtung, daß nach bilateraler Nephrektomie und Adrenalektomie der Substratanstieg verzögert verläuft und ein wesentlich niedrigeres Niveau erreicht als bei Tieren mit intakten Nebennieren (19,27).

Es spricht einiges dafür, daß den Nebennieren eine wichtige Funktion in der Regulation der Substratsynthese zukommt. Die Hypophyse ist in dieses Regelsystem durch Sekretion von ACTH eingeschaltet. So fallen die Substratwerte nach Hypophysektomie ab (26,40). Dieser Abfall kann durch ACTH-Gabe aufgehoben und sogar überkompensiert werden (26). Identische Resultate ergeben sich nach Adrenalektomie, wo Dexamethason (40) und Cortisol (26) den Substratabfall aufheben, nicht dagegen ACTH (27).
Bei Ratten wurde sogar ein Anstieg des Angiotensinogens nach Cortisolinjektion wie nach bilateraler Nephrektomie beschrieben (19). Es gibt ferner Hinweise darauf, daß auch das sym-

pathische Nervensystem die Substratsynthese beeinflußt entweder durch Freisetzung von Adrenalin und Wirkung auf die hepatische Adenylcyclase (17) oder aber durch stressinduzierte Aktivierung hypothalamischer Zentren, die via CRF und ACTH auf die Leber wirken. So spricht hierfür die Beobachtung, daß im Vergleich zu bilateral nephrektomierten Ratten auch bei scheinoperierten Tieren ein signifikanter Anstieg des Renin-Substrats erfolgt (19), was ebenfalls beim Kaninchen nach chirurgischen Eingriffen gefunden wurde (11).

Der Anstieg der Renin-Substrat-Konzentration nach einer Angiotensin II-Infusion wird begleitet von gleichzeitig erhöhten Corticosteroidwerten. Durch Adrenalektomie kann dies verhindert werden (6). Hieraus könnte geschlossen werden, daß Angiotensin II auf dem Weg über erhöhte Corticosteroidkonzentrationen auf die Substratsynthese einwirkt.
REID et al. (39) sehen diese Erklärung als nicht zutreffend an: Nach einer Angiotensin II-Infusion erfolgt der Angiotensinogen-Anstieg im Plasma nach etwa 3 Stunden (6).
Die erhöhten Renin-Substrat-Konzentrationen sollen zu diesem frühen Zeitpunkt nicht Folge einer gleichzeitig gesteigerten Corticosteroidsekretion sein. Hierzu sind schon normale Steroidkonzentrationen ausreichend aber auch notwendig als Adjuvans für eine direkte Angiotensin II-bedingte Synthesesteigerung. Eine vermehrte Angiotensinogenproduktion als Reaktion auf erhöhte Plasma-Corticosteroidspiegel hingegen erfolgt mit einer deutlich längeren zeitlichen Latenz von 5 bis 24 Stunden (39).

Bei der Erörterung der veränderten Substratkonzentrationen muß noch folgendes bedacht werden: Da Angiotensin II-Infusionen eine Hämokonzentration bewirken (CUTHBERT et al. 1970), könnten gering gesteigerte Renin-Substrat-Werte theoretisch auch auf einen Anstieg der Plasma-Protein-Konzentration zurückzuführen sein. Dies wurde in den vorliegenden Befunden durch Messung des Gesamtproteins im Plasma ausgeschlossen, das im Verlauf der Beobachtung keine signifikante Veränderung aufwies. Der Hämatokrit war ebenfalls unverändert.

Bei den vorliegenden Ergebnissen könnte, in der Tiergruppe mit einer Endotoxindosis von 3 µg/kg, eine Stimulierung der Substratsynthese durch Angiotensin II vermutet werden. Bei einer angegebenen Latenz der AT II-Wirkung von 3 Stunden (6) sind unsere Substratwerte 3 h nach Endotoxinapplikation, trotz zu diesem Zeitpunkt erhöhter Plasma-Renin-Werte, nicht signifikant vom Ausgangswert verschieden. Entsprechend erfolgt nach 6 h und 9 h ein signifikanter Anstieg. Mit dem Erreichen maximaler Renin- und somit Angiotensin Werte 6 h p.i. wird ein Maximum der Substratspiegel und kein weiterer Anstieg nach 9 h beobachtet. Obwohl bei 24 h die Renin-Konzentration wieder im Normbereich liegt, sind gleichzeitig die Angiotensinogenwerte noch maximal erhöht. Dies könnte auf einen Einfluß von Corticosteroiden zurückzuführen sein, deren Einwirkung auf die Substratsynthese in der Leber ja eine wesentlich längere Latenzzeit aufweist. Vom 24 h-Wert nimmt die Angiotensinogenkonzentration entsprechend einer angegebenen Halbwertszeit von 2-4 Tagen (40) ab.

Bei Tieren mit einer Endotoxindosis von 6 µg/kg zeigt sich erstaunlicherweise ein völlig andersartiger Verlauf der Substratkonzentration. Maximale Angiotensinogenwerte werden hier nicht nach 9 h, sondern erst nach 48 h gefunden. Nach den eigenen Befunden und Angaben in der Literatur kann für diesen verzögerten Anstieg keine eindeutige Erklärung abgegeben werden. Der in der Zeit zwischen 6 h und 12 h beobachtete geringere Anstieg im Vergleich zu der anderen Tiergruppe mit 3 µg/kg könnte seine Ursache in einem erhöhten Substratverbrauch in dieser Phase haben. Eine Erhöhung der Renin-Konzentration um den Faktor 6 erniedrigt die Substratkonzentration um 1/3 (47). Der in unseren Versuchen beobachtete Reninanstieg betrug 460%, ein Bereich also, in dem mit einer Beeinflussung der Renin-Substrat-Werte gerechnet werden kann. Es bleibt dennoch die Frage offen, warum die Angiotensinogenkonzentration in einem so späten Stadium, wie von 24 h auf 48 h, weiter ansteigt, zumal zu diesem Zeitpunkt keine von den Normalwerten unterschiedlichen Renin-Konzentrationen zu finden sind.

Durch welchen genauen Mechanismus im Verlauf einer Endotoxinämie beim Kaninchen Veränderungen von Angiotensinogensynthese und Reninfreisetzung bewirkt werden, muß weiteren Forschungen vorbehalten bleiben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H. Wernze für die Überlassung des Themas und seine allzeit tatkräftige Unterstützung und Beratung in allen anfallenden Fragen und Problemen, die auch über den Rahmen dieser Arbeit hinausgingen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Veränderungen von Blutdruck, Plasma-Renin-Aktivität, Plasma-Renin-Konzentration und Plasma-Renin-Substrat-Konzentration nach Endotoxingabe von 6 µg/kg und 3 µg/kg untersucht. Die Kenngrößen des Renin-Angiotensin Systems wurden radioimmunologisch, der Blutdruck indirekt an der Ohrarterie gemessen.

Der Blutdruck zeigte, im Gegensatz zu anderen Tieren, nur einen geringen Abfall, was als speziesspezifische Reaktion für das Kaninchen gewertet werden kann.

Die PRA und PRC stiegen in beiden Tiergruppen signifikant an, mit einem Maximum 6 h nach der Endotoxingabe. Der Anstieg der PRC war in dem Kollektiv mit 6 µg/kg bei 6 h größer als bei Tieren mit 3 µg/kg Endotoxin.

In beiden Tiergruppen waren die Renin-Konzentration und die Renin-Aktivität vom Zeitpunkt 24 h nach der Endotoxininjektion nicht mehr von den Ausgangswerten verschieden.

Das Verhalten der Plasma-Renin-Substrat-Konzentration erwies sich in beiden Tiergruppen als unterschiedlich. Einem Maximalanstieg des Renin-Substrats nach 9 h bei 3 µg/kg Endotoxin stand eine protrahierte Zunahme mit einem Maximum nach 48 Stunden bei der hohen Dosis (6µg/kg) gegenüber.

Aus den Versuchen geht hervor, daß die Plasma-Renin-Substratkonzentration sich völlig losgelöst von den Veränderungen der Renin-Sekretion entwickeln kann. In der Regulation der hepatischen Substratsynthese sind offenbar verschiedene bekannte (Angiotensin II-, Glucocorticoidanstieg im Plasma), aber auch noch unbekannte Faktoren eingeschaltet.

VI. LITERATURNACHWEIS

1. ABE, Y., OKAHARA, T., KASHIMOTO, T., YAMAMORO, K., UEDA, J. Relationship between intrarenal distribution of blood flow and renin secretion.
Am. J. Phys. 255, 319 (1973)

2. ABE, Y. Intrarenal blood flow distribution and autoregulation of renal blood flow and glomerular filtration rate.
Jap. Circ. J. 35, 1163 (1971)

3. BARAJAS, J. The innervation of the juxtaglomerular apparatus.
Lab. Invest. 13, 916 (1964)

4. BARGER, A.C., HERD, J.A. The renal circulation.
New Engl. J. Med. 284, 482 (1971)

5. BENESATH, P., SZALAY, L., DEBRECZENI, L.A. et al. Denervation diuresis and renin secretion in the anesthetized dog.
Eur. J. Clin. Invest. 2, 422 (1972)

6. BLAIR-WEST, J.R., REID, J.A., GANONG, W.F. Stimulation of Angiotensinogen release by raised blood angiotensin concentration in the dog.
Clin. Sci. and Mol. Med. 46, 655 (1974)

7. BLAIR-WEST, J.R., BROOK, A.H., SIMPSON, P. Renin response to water restriction and rehydration.
J. Phys. 226, 1 (1972)

8. BLAUFOX, J.R., BROOK, A.H., FROMOWITZ, A., LEE, H.B. Renal blood flow and renin activity in renal venous blood in essential hypertention.
Circ. Res. 27, 913 (1970)

9. BROBMAN, G., ULANO, H.B., HINSHAW, L.B., JACOBSEN, E.D. Mesenteric vascular responses to endotoxin in the monkeys and dog. Am. J. Phys. 219, 1464 (1970)

10. BRUBACHER, E.S., VANDER, A. Sodium deprivation and renin secretion in unanesthetized dogs. Am. J. Phys. 214, 15 (1968)

11. CAMPBELL, D.J., SKINNER, S.J., DAY, A.J. Cellophane perinephritis hypertention and it's reversal in rabbits. Circ. Res. 38, 105 (1973)

12. COOTE, J.H., VALERIE, M., JOHNS, E.J., SINGER, B. Effect of renal nerve stimulation, renal blood flow and adrenergic blockade on plasma renin activity in the cat. J. Physiol. 226, 15 (1972)

13. CREMER, H. Der Endotoxinschock. Arch. für Kinderheilkunde 182, 209 (1971)

14. DAVIS, J.O. What signals the kidney to release renin? Circ. Res. 28, 301 (1971)

15. ERDÖS, E.G., MIWA, I. Effext of endotoxin shock on the plasma kallikrein-system of the rabbit. Fed. Proc. 27, 92 (1968)

16. FOJAS, J.E., SCHMIDT, H.E. Renin release, renal autoregulation and sodium excretion in the dog. Am. J. Phys. 219, 464 (1970)

17. FREEMAN, R.H., ROSTORFER, H.H. The effects of adrenalextomie, cortisol and epinephrine on in vitro biosynthesis of renin-substrate. Federation Proc. 31, 381 (1972)

18. FREEMAN, R.H., ROSTORFER, H.H. The effects of nephrectomy on the in vitro biosynthesis of renin-substrate. Physiologist 14, 144 (1971)

19. FREEMAN, R.H., ROSTORFER, H.H. Hepatic changes in renin substrate biosynthesis and alkaline phosphatase activity in the rat. Am. J. Phys. 223, 365 (1972)

20. GILBER, V.E., BRAUDE, A. Reduction of serum complement in rabbits after injection of endotoxin. J. exp. Med. 116, 477 (1962)

21. GRANDCHAMP, R., VEYRAT, J., ROSSET, E., SCHERRER, R., TRUNINGER, B. Relationship between renin and intrarenal hemodynamics in hemorrhagic hypotention. J. Clin. Invest. 50, 970 (1971)

22. GRANT, R.T., ROTHSCHILD, P. A device for estimating blood pressure in the rabbit. J. Phys. 81, 265 (1934)

23. GROSS, F., DAUDA, G., KAZDA, S. Increased fluid turnover and the activity of the renin-angiotensin system under various experimental conditions. Circ. Res. 30, Supp. II, II-173 (1972)

24. GRÜN, M., LIER, H., THIEL, H., RASENACK, U. Effekt einer Endotoxinämie auf die renale und intrarenale Hämodynamik bei Ratten mit und ohne portocavale Anastomose. Zeitschr. für Gastroenterologie 2, 285 (1976)

25. HALL, R.C., HODGE, R.L. Vasoactive hormones in endotoxin shock: A comparetive study in cats and dogs. J. Phys. 213, 69 (1971)

26. HASEGAWA, H., NASSJLWTTI, A., RICE, K., MASSON, G. Role of pituitary and adrenals in the regulation of plasma angiotensinogen.
Am. J. Phys. 225, 1 (1973)

27. HAYNES, F.W., FORSHAM, P.H., HUME, D.M. Effexts of ACTH, cortisone, desoxycorticosterone and epinephrine on plasma hypertensinogene and renin concentration in dogs.
J. exp. Med. 172, 265 (1952)

28. HEIFFER, M., MUNDY, R., MEHLMAN, B. Effect of lethal doses of bacterial endotoxin (E. coli) on sympathetic neurohormones in the rabbit.
Am. J. Phys. 198, 1307 (1960)

29. HINSHAW, L.B., VICK, J.A., CARLSON, C.A. FAN, Y.L. Role of histamine in endotoxine shock.
Proc. Soc. exp. Biol. 104, 379 (1960)

30. HOIRUCHI, K., TANAKA, H., YAMAMOTO, K., UEDA, J. Distribution of renin in the dog kidney.
Life Sci. 10, 727 (1971)

31. KHAYYALL, M., MacGREGOR, J., BROWN, J.J., LEVER, A.F., ROBERTSON, J.I. Increase of plasma-renin substrate after infusion of angiotensin in the rat.
Cli. Sci. 44, 87 (1973)

32. McCUBBIN, J.W., PAGE, I.H. Control of renin release. in: Renal Hypertension, Year book medical publishers, pp. 102 (1968)

33. MOGIL, R., ITSKOVITZ, H., RUSSEL, J.H., MURPHY, J.J. Effecs of renal innervation and renin activity in salt metabolism and hypertension.
Am. J. Phys. 216, 693 (1969)

34. NASSJLETTI, A., MASSON, G. Effexts of corticosteroids on plasma angiotensinogen and renin activity. Am. J. Phys. 217, 1396 (1969)

35. NASSJLETTI, A., MASSON, G. Stimulation of angiotensinogen formation by renin and angiotensin. Prox. Soc. exp. Biol. 142, 307 (1973)

36. NIES, A.S., FORSYTH, R.P., WILLIAMS, H.E., MELMON, K.L. Contribution of kinins to endotoxin shock in unanastetized rhesus monkeys. Circ. Res. 22, 155 (1968)

37. NIES, A.S., MELMON, K.L. Variations in endotoxin induced kinin production and effexts between the rabbit and the rhesus monkey. Am. J. Phys. 225 (1), 230 (1973)

38. NOCENTI, M.R., SIMCHON, S., CIZEC, J. Analysis of the renin-angiotensin system during fasting in adult male rabbits. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 150, 142 (1973)

39. REID, I.A. Effect of angiotensin II and glucocorticoids on plasma angiotensinogen concentration in the dog. Am.J. Phys. 232 (2), E 234 (1977)

40. REID, I.A., TU, W.H., OTSUKA, K., ASSAYKEEN, T.A. GANONG, W.F. Studies concerning the regulation and importance of plasma angiotensinogen concentration in the dog. Endocrinol. 93, 107, (1973)

41. SCHAUER, A. Initial libertation of biogenic amines and effext of further mediators following application of endotoxin. in: URBASCHECK- Gram-negative bacterial infections Springer-Verlag, S. 315 - 322 (1973)

42. SELMYER, J.P., DAVID, G.R., SWAN, K.G. Renal blood flow during endotoxin shock in the subhuman primate. Surgery, Gyn. & Obst. 137 (1973)

43. SKINNER, S.L., McCUBBIN, J.W., PAGE, I.H. Control of renin secretion. Circ. Res. 15, 64 (1964)

44. SPINK, W., REDDIN, J., ZAK, S., PETERSON, M., STARZECKI, B., SELJESKOG, E. Correlation of plasma catecholamine levels with hemodynamic changes in canine endotoxin shock. J. Clin. Invest. 45, 78 (1966)

45. STEIN, J.H., FERRIS, T.F. The physiology of renin. Arch. Intern. Med. 131, 860 (1973)

46. TAQUINI, A., BLAWUIER, P., TAQUINI, Jr. On the production and role of renin. Can. Med. Ass. J. 90, 210 (1964)

47. TATEISHI, H., NASSJLETTI, A., MASSON, G. Role of renin in the regulation of angiotensinogen levels in plasma. Proc. Soc. exp. Biol. 137, 1424 (1971)

48. THOMAS, L. The role of epinephrine in the reactions produced by endotoxins of gram-negative bacteria. J. exp. Med. 104, 865 (1956)

49. TRUNINGER, B., ROSEN, M., GRANDCHAMP, A., STREBEL, H., KRIECK, R. Redistribution of renal blood flow in haemorhagic hypotention - Role of renal nerves and circulating catecholamines. Eur. J. Clin. Invest. 1, 277 (1971)

50. VANDER, A.J. Effext of catecholamines and renal nerves on renin secretion in anesthetited dogs.
Am. J. Physiol. 209 (3), 659 (1965)

51. VICK, J.A. Bioassay of the prominent humoral agents involved in endotoxin shock.
Am. J. Physiol. 209, 75 (1965)

52. WAGEMARK, J., UNGERSTEDT, U., LJUNGQVIST, A. Sympathetic innervation of the juxtaglomerular cells of the kidney.
Circ. Res. 22, 149 (1968)

53. WEICHSELBAUM, T.E. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma.
Am. J. Clin. Path. 7, 40 (1946)

54. WHITE, F.N., GOLD, E.M. VAUGHN, D.L. Renin-Aldosterone system in endotoxin shock in the dog.
Am. J. Physiol. 215, 1195 (1967)

55. WILSON, D., ROMERO, C., STRONG, C., LEE, K., SCRYER, S. Indirect blood pressure measurement in the rabbit.
Lab. Meth. 86, 1033 (1975)

56. WYLER, F., NEUNTZE, J., RUFULPH, A. Effects of endotoxin on distributation of cardiadic output in unanesthetized rabbits.
Am. J. Physiol. 219, 246 (1970)

57. ZWEIDACH, B., NAGLER, A., THOMAS, L. The role of epinephrine in the reactions produced by the endotoxines of gram-negative bacteria.
J. Exp. Med. 104, 881 (1956)

58. ROMERO, J.C., JEFFRY, D. Effects of renal artery constriction and subsequent contralateral nephrectomy on the blood pressure, Plasma Renin activity and plasma renin-substrate concentration in rabbits.
Lab. Invest. 22, 531 (1970)

LEBENSLAUF

Am 19. April 1955 wurde ich als zweites Kind des Lehrers Josef Trapp und seiner Frau Irma, geb. Hesse, in Altenhundem/ Sauerland geboren.

1960 wurde ich in die Kath. Volksschule Hofolpe eingeschult. Ab 1964 besuchte ich das Neusprachliche Gymnasium Altenhundem, wo ich dann 1973 mit dem Abitur abschloß.

Nach einsemestrigem Studium der Physik im Wintersemester 73/74 an der Ruhr Universität Bochum nahm ich im Sommer 1974 das Studium der Medizin an der Universität Würzburg auf. Im April 1976 legte ich meine ärztliche Vorprüfung ab. Ich schloß das Studium mit dem medizinischen Staatsexamen am 22. April 1980 ab.

Vom 28. Juli 1980 an leiste ich meinen Wehrdienst als Stabsarzt bei der Bundeswehr ab.

Michael Trapp

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80